

博士学位論文

微生物燃料電池の有機物・窒素の同時除去性能
および発電効率の向上

2019 年 9 月

茨城大学大学院理工学研究科
社会インフラシステム科学専攻

王 峰宇

要旨

微生物燃料電池の有機物・窒素の同時除去性能および発電効率の向上

2015年に持続可能な開発目標（SDGs）とパリ協定が採択されて以来、脱炭素社会の構築に向けた取り組みが精力的に進められてきた。一方、人間活動の影響により窒素・リンの循環は高リスクの領域にあり、地球環境が安定して機能する範囲（Planet boundary）を超えている。このような中で、排水処理の分野では持続可能な水利用を実現させるために、省エネ・創エネを達成しながらも排水中の有機物と栄養塩類を同時に除去可能な処理手法が求められている。

近年、排水から電気エネルギーを直接取り出せる微生物燃料電池（Microbial Fuel Cell : MFC）が注目を浴びている。化学エネルギーから電気エネルギーの変換には、アノードに付着している発電微生物が寄与している。しかし、実排水では、発電効率（CE）は20%程度、発電力は数百 mW m⁻²程度に留まっている。また、栄養塩類の一つである窒素を MFC で除去するためには、硝化反応で必要となる酸素を供給する必要がある。酸素がポリテトラフルオロエチレン（PTFE）カソードを透過する特性を利用して、エネルギーフリーで有機物・窒素の同時除去を検討した報告があるが、酸素供給性能の向上が課題となっている。そこで本論文では、MFC の有機物・窒素の同時除去のために、エネルギーフリーで酸素供給性能を向上させる手法の確立および CE の向上の可能性を検討することを目的とした。

本論文の構成は次の通りである。第1章では、本論文の背景と目的、構成について述べた。第2章では、微生物燃料電池における有機物・窒素除去に係わる各種プロセス、CE の制限要因とその改善に関する既存の学術的な知見を整理した。第3章では、本論文で用いた実験、分析、解析の方法をまとめた。第4章では、排水に含まれる有機物・窒素の同時除去のために、気体透過膜を導入した二槽式 MFC を考案した。MFC のアノード槽で排水中の有機物（電子供与体）を処理し、その後、カソード槽に供給する。カソード槽では、気体透過膜を通して受動的な酸素供給を行うことによりエネルギーフリーで硝化反応を行い、生成した硝酸イオンをカソードの電子受容体として利用することで発電を可能にするプロセスである。第5章、第6章では、CE を向上させるために、数学、化学、生化学の視点からそれぞれ検討を行った。第7章では、結論を述べ、本論文を総括した。

第4章～第6章で得られた主要な知見を以下に示す。

第4章で考案した二槽式 MFC では、アノード槽、カソード槽の逐次反応により排水中の有機物・窒素が処理されるため、両者の反応速度がある程度揃っていた方が検討しやすい。ここでは、生物分解に時間を要する有機物（主にフェノール）を含むコークス炉排水を対象とした。気体透過膜を導入した MFC の構築に先立ち、酸素透過性能の高いシリコン膜に着目し、その受動的な

酸素供給による硝化性能を評価した。シリコン膜に硝化細菌を付着させた場合の硝化速度はシリコン膜のみの場合の理論的な硝化速度（受動的に供給された酸素がすみやかに硝化反応に利用されると仮定）と比べ、約 18 倍も高かった。酸素は受動的にシリコン膜を通じて供給されていたにも関わらず、その硝化速度は曝気時の約 34%を占めた。また、シリコン膜を利用することにより、 NO_2^- -N または NO_3^- -N の生成を制御できる可能性が示唆された。シリコン膜を導入した二槽式 MFC の有機物除去率が 90%に達しており、CE が 2.7%で、最大出力密度が 54 mW m^{-2} を達成した。CE の向上は窒素除去効率を高める鍵であることが示された。

第 5 章では、陰イオン界面活性剤である直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（LAS）に着目した。LAS が MFC の有機物除去と発電に対する影響を調べるためには、発電微生物が直接摂取できる単純な有機物を対象とした方が検討しやすい。ここでは酢酸基質で運転していたエアカソード型 MFC に、酢酸と LAS、LAS のみをそれぞれ流入させて実験を行った。LAS のみで運転したとき、アルキル基の炭素数が多いものから除去され、24 時間で 45.3%の LAS が除去された。これにともない、最大で 0.025 V の電圧が得られた。酢酸のみで運転したときの CE は 3.4%であったのに対し、LAS のみのときは 1.1~1.6%であった。これらの結果を用いて酢酸と LAS を流入させたときの CE を試算すると、3.1~3.3%と見積もられたが、実測では 4.6~5.5%であった。LAS が存在するとアノードに付着する競合微生物の酢酸摂取が制限され、その結果、発電微生物がより多くの酢酸を摂取することができたため、CE が向上されたものと考えられた。

第 6 章では、競合微生物を組み込んだ一次元アノード生物膜モデルを用いて、CE に対して微生物の各パラメーターの感度解析を行った。その結果、競合微生物の増殖収率が CE に与える影響が「非常に強い」ことが示された。反応速度論では、増殖収率は定数で与えられるのが一般的である。しかし、アノードに付着した好気性競合微生物は、陽イオン交換膜カソードや PTFE カソードから酸素が透過するため、実際には増殖収率が変動する可能性もある。例えば、有機物を酸化分解することにより細胞内では活性酸素種が生成することが知られているが、細胞を防御するために抗酸化物質が合成される。これには有機物が利用されるため、増殖に使われる有機物が少なくなれば、増殖収率は小さくなると考えられる。前述した感度解析の結果を踏まえると、好気性競合微生物の抗酸化力が変動すると、発電性能に影響する可能性が仮説として考えられる。一方、排水処理を担う微生物群を対象として抗酸化力を評価した研究例はない。また、MFC のアノードに付着した微生物群では、連続的に採取して抗酸化力を評価することが難しい。

そこで、MFC における好気性競合微生物を想定し、都市下水処理場の標準活性汚泥を対象に ORAC 法を適用し総抗酸化力を調べた。その結果、有機物濃度の減少にともない ORAC のばらつきが収まる傾向が確認できた。つまり、反応槽の有機物濃度は活性汚泥の総抗酸化力に大きく影響することが示された。また、活性汚泥は好気条件で抗酸化物質が消費され、その後有機物を摂取しながら抗酸化物質を合成することが確認された。以上より、活性汚泥の細胞外の有機物濃度

は抗酸化物質の合成に大きく影響することが明らかとなった。本論文では、増殖収率に対する影響までは調べられなかったが、前述したように MFC の構造上、アノード槽に酸素が透過するとともに、有機物濃度も時系列変化するため、同様の現象が起こる可能性がある。一方、エアカソード型 MFC の場合、有機物濃度やカソードからの酸素透過はある程度制御できるため、好気性競合微生物の増殖収率を調整できる可能性がある。以上のことから、アノード付着微生物群の抗酸化力の視点から、CE の向上を検討するという新しい研究の視点が見出された。

本論文では、シリコン膜の受動的な酸素供給により、MFC はエネルギーフリーで有機物・窒素除去と発電ができることを明らかにした。また、LAS は CE を向上させる効果があることを明らかにした。さらに、アノードに付着する競合微生物の総抗酸化力を切り口として、CE の向上にアプローチする新しい視点が見出された。

-Abstract-

Enhancement of the simultaneous removal of organic matter and nitrogen and improving coulombic efficiency of microbial fuel cells

After the adoption of sustainable development goals and the Paris Agreement in 2015, considerable efforts are being made to achieve a decarbonized society. According to the Planetary Boundary, human activities have affected the nitrogen and phosphorus cycle, which resulted the cycle beyond the range in which the Earth system is stable. In wastewater treatment, to realize sustainable water utilization, a processing method that is capable of simultaneous removal of organic matter and nitrogen from wastewater and achieve both energy saving and energy creation is necessary. Recently, to treat wastewater and simultaneously generate electrical energy, microbial fuel cells (MFCs) have been used. The conversion of chemical energy to electrical energy is attributed to the exoelectrogenic bacteria that are attached to the anode. Unfortunately, the coulombic efficiency (CE) and the power generation of MFCs that are used for treating real wastewater were only ~20% and several hundred mW m^{-2} , respectively. Moreover, to remove nitrogen from wastewater by MFCs, oxygen is required for the nitrification reaction. Generally, a polytetrafluoroethylene cathode is commonly used for nitrogen removal in MFCs; however, the oxygen diffusion efficiency of PTFE is relatively low among gas-permeable membranes. Therefore, in this study, we aim to improve the oxygen supply performance without any energy input and explore the possibility of enhancing the CE of MFCs for the simultaneous removal of both organic matter and nitrogen.

This research has been structured into seven chapters. In Chapter 1, we introduce the background and objective of this study, as well as the composition of this research. In Chapter 2, we summarize the previous studies on processes related to simultaneous removal of organic matter and nitrogen by MFCs, the limiting factors of CE, and the subsequent improvement plans. In Chapter 3, we summarize the experimental and analytical methods used in this research. In Chapter 4, a dual-chamber MFC was designed in which a gas permeable membrane was introduced for the simultaneous removal of organic matter and nitrogen in wastewater. On the one hand, organic matter (electron donor) is treated in the anode chamber of the MFC, while the effluent is fed to the cathode chamber. On the other hand, in the cathode chamber, oxygen is supplied via a passive oxygen supply through the gas permeable membrane, which leads to the generation of nitrate ions that are used as electron acceptors at the cathode to enable power generation. In Chapters 5 and 6, we examined the chemical and biochemical perspectives to improve CE. Finally, in Chapter 7, we provide the conclusion and summarize this research. The primary results presented in Chapters 4–6 are discussed below.

In Chapter 4, organic matter and nitrogen in wastewater have been designed to be removed by sequential reactions at the anode chamber and cathode chamber of the dual-chamber MFCs, respectively; thus, balancing the sequential reactions at the two chambers is necessary. In this study, as the influent, we used synthetic coke-oven wastewater containing phenol (organic matters), which requires time to be biodegraded.

Moreover, for passive oxygen supply at the cathode chamber, we introduced a silicone rubber membrane that has high oxygen permeability (~140 times as high as that of PTFE). The results indicated that although oxygen supply was passive, nitrification accounted for 34% of these aeration conditions and that silicone rubber membrane can control NO_2^- -N or NO_3^- -N production. The dual-chamber MFC used for treating the synthetic coke-oven wastewater achieved a maximum power density of 54 mW m^{-2} with a CE of 2.7%. Thus, we conclude that, for sustainable coke-oven wastewater treatment in MFCs, the silicone rubber membrane is effective and that the improvement of CE is important for enhancing nitrogen removal performance.

In Chapter 5, we studied the effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on organic matter removal and power generation in MFCs. For this purpose, an air-cathode MFC was operated using acetic acid as the substrate because it can be directly consumed by bacteria. We conducted the experiments by infusing acetic acid, LAS, and acetic acid into the MFC. We removed 45.3% of LAS within 24 h; moreover, it was removed from the alkyl group with highest number of carbon atoms. Furthermore, we obtained a maximum voltage of 0.025 V. The CE of the MFC that was operated with acetic acid was 3.4%, while that of the MFC operated with LAS was 1.1%–1.6%. These results confirm that the CE of the MFC operated with acetic acid and LAS was estimated to be 3.1%–3.3%; however, the CE obtained was 4.6%–5.5%. The enhancement in CE could be because of the LAS-affected acetic acid uptake of aerobic heterotrophic bacteria (competing bacteria), which were observed on the surface of anode biofilm. Thus, the exoelectrogenic bacteria present at the bottom of anode biofilm consumed most of the acetic acid.

In Chapter 6, using a one-dimensional anodic biofilm model, a sensitivity analysis was performed using bacteria (exoelectrogenic bacteria and competing bacteria) attached to the anode on CE. The results confirm that the effect the competing bacteria's yield on CE was "very strong." According to kinetics, yield is a constant value; however, that of competing bacteria attached to the anode may fluctuate. For example, reactive oxygen species are formed in cells as byproducts of aerobic metabolism, while antioxidants are synthesized to protect against cell damage. To synthesize antioxidants, organic matter is used; thus, the yield may decrease with decrease in organic matter. Based on the sensitivity analysis results, we hypothesize that changes in the amount of antioxidants in the competing bacteria may affect the power generation of MFCs. To date, there have been no studies to evaluate the antioxidative capacity of bacteria used for wastewater treatment. Moreover, it is difficult to continuously collect and evaluate the antioxidant capacity of bacteria attached to the anode in MFCs.

In this study, we applied the oxygen radical absorbance capacity assay to conventional activated sludge obtained from a municipal wastewater treatment plant. Then, the total antioxidant capacity was investigated based on the assumption that the total antioxidant capacity of aerobic competing bacteria attached to anode in MFC performs in the same manner as conventional activated sludge. The results indicated that the concentration of organic matter in the aeration tank considerably affected the total antioxidative capacity of the conventional activated sludge; moreover, we confirmed the antioxidant synthesis of the conventional

activated sludge. These results revealed that the concentration of organic matter considerably affects the synthesis of antioxidants in the conventional activated sludge. Therefore, in this study, although we did not investigate the effects of antioxidants synthesis on the yield of aerobic competing bacteria attached to anode, the same phenomenon may occur in MFCs because oxygen permeates into the anode chamber and the concentration of organic matter changes over time. However, in the case of air cathode MFC, organic matter concentration and oxygen permeation through cathode can be controlled; thus, there is a possibility that the yield of aerobic competing bacteria can be adjusted. To summarize, this work presents a new approach for enhancing the CE of MFCs using the antioxidative capacity of bacteria.

The results of this research reveal that silicone rubber membrane is effective for developing a sustainable process for the simultaneous removal of organic matter and nitrogen in MFCs. Moreover, LAS can be used for enhancing the CE, whereas the ORAC assay of bacteria is capable of providing a new approach for enhancing the CE.

Fengyu Wang

Enhancement of the simultaneous removal of organic matter and nitrogen and improving coulombic efficiency of microbial fuel cells.

Dr. thesis, Major in Social Infrastructure System Science, Graduate School of Science and Engineering, Ibaraki University, Japan.

学位論文審査委員会委員長：

茨城大学 広域水圏環境科学研究教育センター 桑原 祐史 教授 博士（工学）

学位論文審査委員会委員：

茨城大学 都市システム工学領域 小林 薫 教授 博士（工学）

茨城大学 物質科学工学領域 北野 誉 准教授 博士（理学）

茨城大学 都市システム工学領域 藤田 昌史 准教授 博士（工学）（指導教員）

研究科外審査委員：

群馬大学 理工学府環境創生部門 渡邊 智秀 教授 博士（工学）

—目次—

1 序論

1.1 研究背景	3
1.1.1 地球温暖化とエネルギー需要	
1.1.2 脱炭素社会の構築に向けた国際的対応	
1.1.3 地球システムにおける栄養塩類の循環	
1.1.4 持続可能な水利用とそれに向けた微生物燃料電池（MFC）の利用可能性	
1.1.5 MFC の有機物・窒素の同時除去性能および発電効率の改善に向けた課題	
1.2 目的	9
1.3 研究の構成	9

2 既往の知見の整理

2.1 微生物燃料電池（MFC）による有機物・窒素の同時除去	13
2.1.1 MFC による有機物除去と発電	
(1) MFC の概要	
(2) 発電微生物の電子伝達	
2.1.2 MFC における窒素除去に係わる各種プロセス	
2.1.3 クーロン効率（CE）の制限要因とその改善策	
2.2 界面活性剤	18
2.2.1 界面活性剤の概要	
2.2.2 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（LAS）と生分解	
2.2.3 MFC における界面活性剤の応用	
2.3 抗酸化力	20
2.3.1 生体内の抗酸化機構	
(1) 活性酸素種（ROS）	
(2) 抗酸化物質	
2.3.2 総抗酸化力の評価	
2.3.3 微生物の抗酸化力	

3 方法

3.1 気体透過膜の受動的酸素供給性能と付着した生物膜の硝化性能の評価	24
3.1.1 シリコーン膜の総括酸素移動容量係数の評価	
3.1.2 シリコーン膜による理論的硝化速度の推定	

3.1.3	硝化細菌生物膜の形成と馴致	
3.1.4	硝化試験	
3.2	実験室規模の MFCs の運転とその数学モデル	29
3.2.1	模擬コークス炉排水を処理する MFCs と運転	
(1)	エアカソード型 MFC	
(2)	二槽式 MFC (Two-chamber MFC)	
(3)	シリコン膜を導入した二槽式 MFC (Dual-chamber MFC)	
3.2.2	LAS が含まれた排水を処理するエアカソード型 MFC	
3.2.3	競合微生物を組み込んだ次元アノード生物膜モデル	
(1)	モデルの構造	
(2)	パラメータの感度解析	
3.3	MFC の有機物除去と発電性能の評価	37
3.3.1	有機物除去性能	
3.3.2	発電性能	
(1)	電圧	
(2)	出力—電流曲線と電圧—電流曲線	
(3)	CE	
3.3.3	MFC の発電に対する陰イオン界面活性剤の影響評価	
3.4	活性汚泥の総抗酸化力の評価	40
3.4.1	対象とした下水処理場の概要	
3.4.2	活性汚泥の ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) の評価手法	
(1)	細胞内溶解性タンパク質の抽出と分析	
(2)	ORAC 分析	
3.4.3	嫌気—好気条件における有機物濃度と活性汚泥の ORAC の関係	
3.5	水質などの分析	45
3.5.1	溶存態有機炭素 (DOC)	
3.5.2	酢酸 (Ac)	
3.5.3	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩 (LAS)	
3.5.4	アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素	
3.5.5	MLSS・MLVSS	
3.5.6	統計解析	

4 気体透過膜を導入した二槽式 MFC による模擬コークス排水中の有機物・窒素の同時除去	
4.1 気体透過膜の受動的酸素供給を利用した二槽式微生物燃料電池の考案	50
4.2 気体透過膜の酸素供給性能とそれによる硝化性能	51
4.2.1 総括酸素移動容量係数を用いた酸素供給性能の評価	
4.2.2 シリコーン膜に付着した生物膜の硝化性能	
4.2.3 シリコーン膜の酸素供給による亜硝酸態窒素の蓄積	
4.3 MFC によるコークス炉模擬排水の有機物除去と発電性能	55
4.3.1 有機物除去	
4.3.2 発電性能	
4.4 シリコーン膜を導入した二槽式 MFC による有機物・窒素の同時除去と発電性能	58
5 陰イオン界面活性剤が微生物燃料電池の有機物除去と発電に及ぼす影響	
5.1 MFC の酢酸除去と発電	63
5.2 LAS 添加時の MFC の有機物除去と発電	63
5.2.1 MFC の酢酸除去と発電	
5.2.2 MFC における LAS の分解	
5.3 LAS による MFC のクーロン効率の改善	67
6 微生物燃料電池の発電効率に影響する要素とそれに対する好気性微生物の抗酸化力の影響	
6.1 MFC 数学モデルを用いた CE を改善する要素の抽出	72
6.1.1 競合微生物を組み込んだ一次元アノード生物膜モデルの再現性	
6.1.2 CE に対する感度解析	
6.2 好気性微生物の抗酸化力	73
6.2.1 活性汚泥の EPS の総抗酸化力	
6.2.2 都市下水処理場における標準活性汚泥の総抗酸化力の動態	
6.2.3 嫌気-好気条件における有機物濃度と活性汚泥の ORAC の関係	
6.3 好気性微生物の抗酸化力が MFC の発電効率に及ぼす影響の検討	76
7 結論	80

参考文献

研究業績リスト

謝辞

—図表目次—

第 1 章

図 1.1.1 1850-2012 年の世界平均地上気温の偏差	3
図 1.1.2 持続可能な開発目標(SDGs)	4
表 1.1.1 パリ協定の概要	4
図 1.1.3 地球の限界による地球システムの状況	5
図 1.1.4 低炭素社会構築における水資源の取組み体系	6
表 1.1.2 異なる排水を用いた MFCs の有機物除去と発電性能	8
図 1.3.1 本論文の構成	10

第 2 章

図 2.1.1 年間別 MFC の論文数 (a) と引用数 (b)	14
図 2.1.2 MFC に関する既往の研究	14
図 2.1.3 二槽型 MFC	15
図 2.1.4 一槽型 MFC	15
図 2.1.5 電池の分類	15
図 2.1.6 発電微生物の電子伝達	16
図 2.1.7 メディエーターとなる物質	16
図 2.2.1 界面活性剤の構造と種類	18
図 2.2.2 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 (LAS) の構造式	19
図 2.3.1 生体内の抗酸化機構	21

第 3 章

表 3.1.1 装置と評価項目	25
図 3.1.1 円筒型装置	26
表 3.1.2 コークス炉模擬排水組成 (20 倍濃縮)	29
表 3.2.1 微量金属元素溶液 (1000 濃縮)	31
図 3.2.1 角型装置	32
図 3.2.2 MFC の構造図	33
図 3.2.3 競合微生物を組み込んだ一次元アノード生物膜モデル	35
表 3.2.2 モデルで使用するパラメーターの値	36
図 3.3.1 出力—電流曲線と電圧—電流曲線	38
表 3.3.1 流入水の組成	39
表 3.4.1 池の川都市下水処理場の概要	40
図 3.4.1 池の川下水処理場の施設概略図	41
図 3.4.2 池の川下水処理場の反応槽	41
図 3.4.3 EPS の抽出	42
図 3.4.4 ふるいによる活性汚泥と陽イオン交換樹脂の分離	43

図 3.4.5 ORAC の測定例	44
図 3.4.6 嫌気一好気条件における有機物濃度と活性汚泥の ORAC 挙動のバッチ試験	45
表 3.5.1 酢酸分析に使用した高速液体クロマトグラフィーの概要	45
表 3.5.2 酢酸分析の条件	46
表 3.5.3 LAS 分析に使用した高速液体クロマトグラフィーの概要	46
表 3.5.4 LAS 分析の条件	46

第 4 章

図 4.1.1 気体透過膜を導入した二槽式微生物燃料電池の概念図	50
図 4.2.1 実験装置内の DO の経時変化	51
図 4.2.2 各種シリコーン膜の総括酸素移動容量係数 (KLa)	52
図 4.2.3 SRM-B 装置内の窒素濃度の経時変化 (81~92)	54
図 4.2.4 流入 NH_4^+-N の濃度と硝化速度の関係	54
図 4.2.5 NH_4^+-N 残存率と NO_2^--N 蓄積率の推移	55
図 4.3.1 エアカソード型 MFC の流入水と排水の DOC	56
図 4.3.2 二槽式 MFC 有機物除去と発電性能	57
図 4.4.1 二槽式 MFC 有機物除去と発電性能	59
図 4.4.2 二槽式 MFC における CE が 2.7% (実測値) 及び CE が 20% (推定値) のときの窒素除去	60

第 5 章

図 5.1.1 108~110 サイクルにおける MFC の電圧の経時変化	63
図 5.2.1 酢酸のみ (Run1) および酢酸と LAS(Run2)投入時の MFC の酢酸濃度と電圧の経時変化	64
図 5.2.2 酢酸のみ (Run1) および酢酸と LAS(Run2)投入時の MFC の出力-電流曲線と電圧-電流曲線	65
図 5.2.3 LAS のみ投入時の MFC の LAS 濃度と電圧の経時変化	66
図 5.2.4 LAS のみ (Run3) 投入時の MFC における LAS の減少率	66
図 5.3.1 Run1-Run3 の CE の比較	68
図 5.3.2 1 サイクルの運転内で装置内に目視で確認できる浮遊物質	69
図 5.3.3 LAS が発電に寄与したメカニズム	69

第 6 章

図 6.1.1 MFC モデルの計算値と実験値	53
表 6.1.1 CE に対する微生物の各パラメーターの感度解析	72
図 6.2.1 活性汚泥の EPS と細胞内タンパク	72
図 6.2.2 活性汚泥の EPS と細胞内タンパクの ORAC	74
図 6.2.3 各槽内の DOC 濃度と活性汚泥の ORAC	75

目次

図 6.2.4 嫌気－好気条件における有機物濃度と活性汚泥の ORAC の挙動	76
図 6.2.5 MFC における好気性微生物の抗酸化反応機構でのエネルギー利用	77

第1章

序論

第1章 序論

- 1.1 研究背景
- 1.2 目的
- 1.3 研究の構成

1.1 では、人間活動が地球温暖化や地球システムにおける栄養塩類の循環への影響を俯瞰し、持続可能な水利用を実現させるために、排水処理分野において微生物燃料電池の有機物・窒素の同時除去性能および発電効率の向上の意義と課題を述べた。1.2 と 1.3 では、1.1 を踏まえて研究の目的と構成について述べた。

=====

1.1 研究背景

1.1.1 地球温暖化とエネルギー需要

2014年に発行したIPCCの第5次評価報告書より、地球規模で見ると過去100年程度の間には観測されたCO₂濃度の上昇、大気と海洋の温度上昇、海面水位の上昇などから、気候システムの温暖化には疑う余地がないと報告されている(Stocker *et al.* 2013)。また、最近の30年間に於いて、各10年間は1850年以降の各々に先立ついずれもの10年間より高温でありつづけたといわれている(図1.1.1)(Pachauri *et al.* 2014; 環境省、2018 a)。その原因について、1951~2010年の観測された世界平均地上気温の上昇の半分以上は温室効果ガス(GHG)濃度の人為的増加によって引き起こされた可能性が極めて高い(95%以上の可能性)(Stocker *et al.* 2013)とされている。

一方、現代の社会の礎となっている化石燃料や鉱物などの枯渇資源は可採年数が迫っており、特に石油資源の枯渇はおよそ70年後と見積もられている(吉野ら、2006)。これは地球温暖化対策と裏表一体の問題になっており、GHGの排出量の少ない低炭素社会作り及び持続可能なエネルギー源の確保が急務となっている。

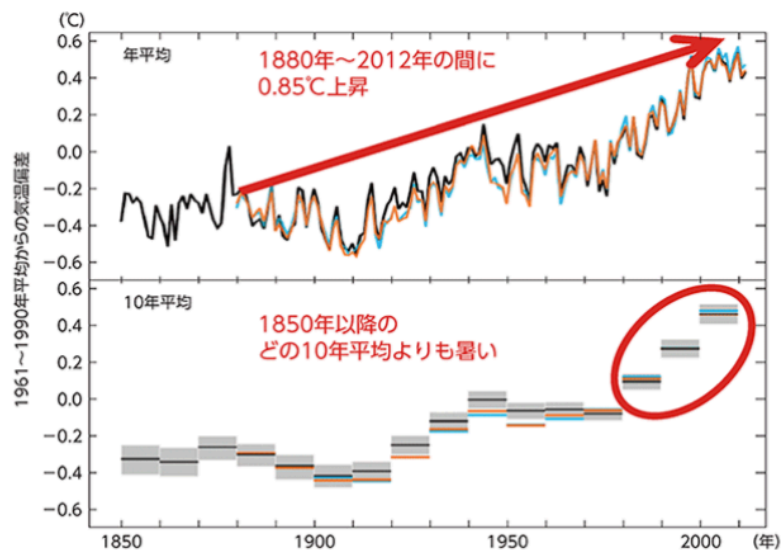


図 1.1.1 1850-2012 年の世界平均地上気温の偏差 (環境省、2018 a)

1.1.2 脱炭素社会の構築に向けた国際的取り組み

地球温暖化を防止するために国際社会が一丸となり、1997年に「京都議定書」が発表された(住友ら、2007)。議定書は、先進国だけに温室効果ガスの排出削減の義務を規定したため、期待できる効果が限られていた。地球環境を存続の危機から徹底的に守るために、2015年に「持続可能な開発目標(SDGs)」と「パリ協定」が採択された。

2015年9月に、国連総会では「持続可能な開発のための2030アジェンダ」が発表され、先進国と開発途上国が共に取り組むべき目標を挙げた(World Health Organization、2015)。

第1章 序論

その中に、「持続可能な開発目標(SDGs)」として、17のゴールと169のターゲットが設定されている(図1.1.2)。SDGsの核は環境を基盤に、その上に持続可能な経済社会活動が存在するというものである。そこから、各国がSDGsを基に、自ら実施指針と施策を設定し、確実に動き始めてきた。

2015年12月に開催された気候変動枠組条約第21回締約国会議では、地球温暖化の防止のための国際的な枠組み「パリ協定」が採択された(秋元ら、2017)。途上国も含む190以上の国と地域が参加したパリ協定では、産業革命前からの平均気温の上昇を1.5~2℃未満に抑制する目標を設け(表1.1.1)、そのために、今世紀後半には世界の温室効果ガスの排出量を実質ゼロにするという脱炭素化の幕を開いた。



図 1.1.2 持続可能な開発目標(SDGs)(環境省、2018b)

表 1.1.1 パリ協定の概要(環境省、2017)

目的	世界共通の長期目標として、産業革命前からの平均気温の上昇を2℃より十分下方に保持。1.5℃に抑える努力を追求。
目標	上記の目的を達するため、今世紀後半に温室効果ガスの人為的な排出と吸収のバランスを達成できるよう、排出ピークをできるだけ早期に抑え、最新の科学に従って急激に削減。
各国の目標	各国は、貢献(削減目標)を作成・提出・維持する。各国の貢献(削減目標)の目的を達成するための国内対策をとる。各国の貢献(削減目標)は、5年ごとに提出・更新し、従来より前進を示す。
長期低排出発展戦略	全ての国が長期低排出発展戦略を策定・提出するよう努めるべき。(COP決定で、2020年までの提出を招請)
グローバル・ストックテイク(世界全体での棚卸し)	5年ごとに全体進捗を評価するため、協定の実施状況を定期的に検討する。世界全体としての実施状況の検討結果は、各国が行動及び支援を更新する際の情報となる。

0.7%（約 70 億 kWh/年 100 万 kW 級の原子力発電所 1 基分の年間電力使用量）にも達すると報告されており（国土交通省、2014）。そのため、排水処理分野では創エネ・省エネの研究が盛んに行われている。

排水処理分野での創エネ・省エネ技術として、嫌気性消化により発生するメタンガスを利用した発電システムがある（国土交通省、2018）。しかし、その発電過程における熱エネルギーから運動エネルギーへの変換時に、カルノーサイクルの制約を受けるため、最終的なエネルギー変換効率は多く見積もっても 40 %程度となっている（電気学会、2002）。これに対して、近年排水から電気エネルギーを直接取り出せる微生物燃料電池（Microbial Fuel Cell; MFC）（Logan、2006）の研究が盛んになっている。MFC はアノードに付着している発電微生物を利用して、化学エネルギーから電気エネルギーの変換できるため、エネルギー変換過程に熱的変換や機械的変換などが必要とせず、約 80%も高いエネルギー変換効率が得られる可能性がある（電気学会、2002）。また、MFC による排水処理は曝気が必要としないため、活性汚泥法と比べると省エネであり、反応による生成物も水と二酸化炭素で、さらに騒音を発生しないなどの特徴を持っている。そのため、MFC の研究は世界中からが注目を浴びている。

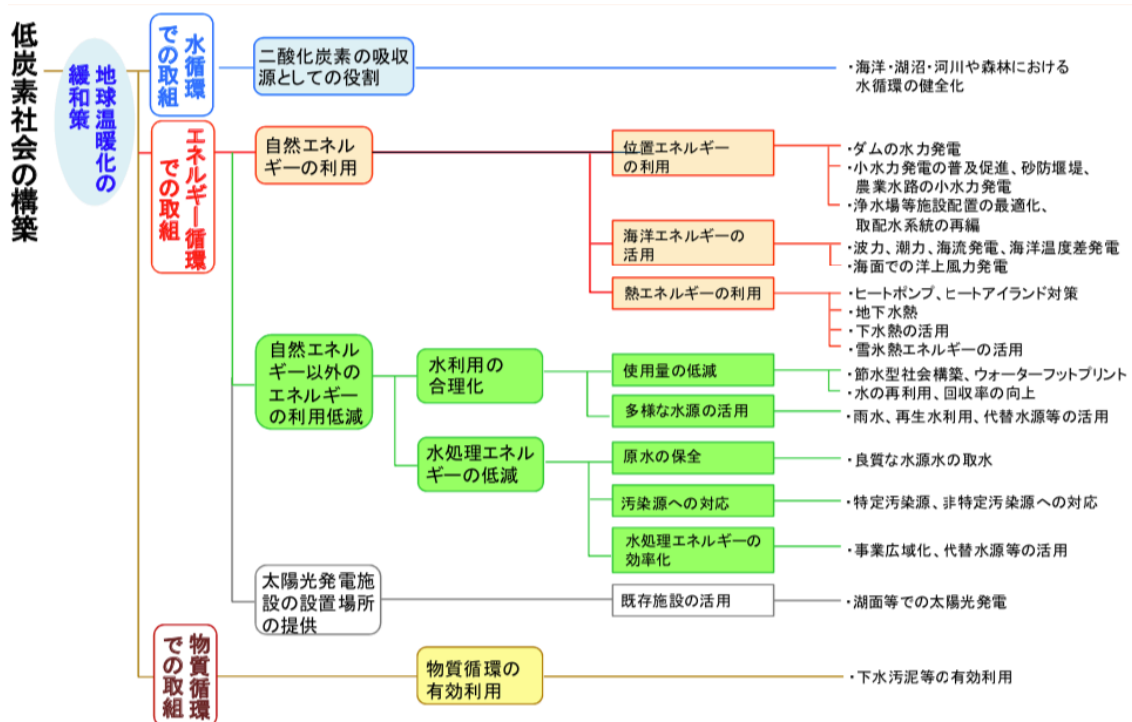


図 1.1.4 低炭素社会構築における水資源の取組み体系（国土交通省、2018）

1.1.5 MFCの有機物・窒素の同時除去および発電効率の改善に向けた課題

MFCは微生物の異化代謝能を利用して、有機物の中に含まれる化学エネルギーを直接電気エネルギーに変換する技術であり (Logan *et al.* 2006)、有機物を効率的に除去できるが (表 1.1.2)、窒素などの栄養塩類の除去を実現させるために工夫が必要となる。酸素はMFCのカソードで電子受容体として一般的に用いられる (Logan, 2008)。一方、酸素の代わりに亜硝酸塩 (NO_2^- -N) または硝酸塩 (NO_3^- -N) を電子受容体として用いることができる。その結果、 NO_2^- -N または NO_3^- -N が除去される (Buitrón *et al.* 2014)。しかし、排水中の NH_4^+ -N をMFCで除去するためには、硝化反応で必要となる酸素を供給する必要がある。

これまでの研究で、酸素がエアカソード型MFCのポリテトラフルオロエチレン (PTFE) カソードを透過する特性を利用して、エネルギーフリーで有機物・窒素の同時除去を検討した報告 (Yan *et al.* 2012; Min *et al.* 2019) があるが、酸素供給性能の向上が課題となっている (Bronzino *et al.* 1999)。二槽式や三槽式MFCを利用して窒素除去を達成した報告もあるが (Virdis *et al.* 2010; Zhang *et al.* 2013; Sotres *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2014)、外部エネルギーを投じてカソード槽での通気が必要であった。外部エネルギーの投入と非効率的な酸素透過性による酸素供給に関する設計上の問題を改善することは、持続可能なMFCでの窒素除去の課題である。

一方、MFCの研究は1999年から現時点まで約20年間を歩んできたが、限られている発電効率 (Coulombic efficiency; CE) と出力は未だに課題として残されている。これまでに、CEを向上させるために、装置の構造の検討 (Liu *et al.* 2005; Ahn *et al.* 2012; Miyahara *et al.* 2013; Kim *et al.* 2016)、触媒や電極の材料の検討 (Yoshida *et al.* 2016; Liu *et al.* 2018; Zhao *et al.* 2018)、排水の種類を検討 (Min *et al.* 2005; Luo *et al.* 2009; Yoshizawa *et al.* 2014) や微生物の群集構造解析 (Kim *et al.* 2007; Liu *et al.* 2017) など多角的に研究されてきた。しかし、表 1.1.2 に示したように、実排水では、CEは20%程度、発電力は数百 mW m^{-2} 程度に留まっている。この二つの課題を解決できないと、実務応用までは実現しがたいと考えられる。特に、前述したように、MFCは一種類の燃料電池として高いエネルギー変換効率の特徴であるが、実排水ではそれを十分に発揮できていない。

実排水を用いたMFCのCEを制限する要因はいくつかもあるが、排水の複雑な組成よりアノード電極に付着する微生物群集が多様で、その中に有機物を摂取するが発電に資しない競合微生物の存在の影響が大きい (Luo *et al.* 2009)。したがって、CEを向上させるために、MFCの構造などのハードの面の検討の他に化学的、生化学的な視点から競合微生物の有機物摂取を制限させるアプローチが必要だと考えられる。

表 1.1.2 異なる排水を用いた MFCs の有機物除去と発電性能

Wastewater source	COD Removal efficiency (%)	CE (%)	Power density (mW m^{-2})	References
Domestic wastewater	90–95	20–27	766	Chen et al. (2006)
Domestic wastewater	>94	15–22	62–120	Ahn et al. (2013)
Domestic wastewater	62–94	9–31	328±11	Ahn et al. (2014)
Food processing wastewater	86	21	230	Mansoorian et al. (2013)
Septic tank wastewater	94.5 ± 2.67	8–22	142 ± 6.71	Yazdi et al. (2015)
Mixed wastewater	87 ± 5	18 ± 2	360	Toczyłowska et al. (2018)
Swine wastewater	83.8	–	175.7	Zhuang et al. (2012)

1.2 目的

本論文では、MFC により有機物除去に加え、エネルギーフリーで窒素除去も達成するために、気体透過膜を導入した二槽式 MFC を構築し、その排水処理と発電の性能の課題を明らかにすることを目的とする。また、数学的（MFC の数学モデル）、化学的（生物膜外の化学物質）、生化学的（生物膜内のバイオマーカー）の各視点から、MFC の発電性能の改善の可能性を検討することを目的とする。具体的には、以下の3点を検討する。

- ① 酸素透過性が高いシリコン膜を導入した二槽式 MFC を考案し、受動的酸素供給における MFC の有機物・窒素の同時除去と発電の性能を評価する。
- ② 陰イオン界面活性剤の一つである直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 (LAS) に着目し、それが MFC の有機物除去と発電に対する影響を明らかにする。
- ③ CE を向上させるにあたり、MFC の数学モデルを用いて、CE に与える影響が強い微生物のパラメータを抽出する。また、微生物の抗酸化力の応答がその微生物のパラメータ、さらに CE に及ぼす影響を検討することを通して、CE 改善の可能性を探索する。

1.3 研究の構成

本論文の構成は図 1.1.1 に示した。具体的には：

第1章「序論」では本論文の背景と目的、本論文の構成を整理した。

第2章「既往の研究」では微生物燃料電池における有機物・窒素除去に係わる各種プロセス、CE の制限要因とその改善に関するこれまでの学術的な知見を整理した。

第3章「方法」では本論文で用いた実験、分析と解析の方法をまとめた。

第4章「気体透過膜を導入した二槽式 MFC による有機物・窒素の同時除去と発電」では、排水に含まれる有機物・窒素の同時除去のために、シリコン膜を導入した二槽式 MFC を考案した。また、その有機物・窒素の除去と発電性能を検討した。

第5章「陰イオン界面活性剤が微生物燃料電池の有機物除去と発電に及ぼす影響」では、化学的な視点から、陰イオン界面活性剤を用いて CE を向上させる検討を行った。

第6章「発電効率に影響する微生物パラメーターの抽出と抗酸化バイオマーカーの利用可能性」では、数学モデルの視点と微生物の抗酸化力という生化学的な視点から、CE を向上させる検討を行った。

第7章「結論」では、本論文の結論を提示した。

第1章 序論

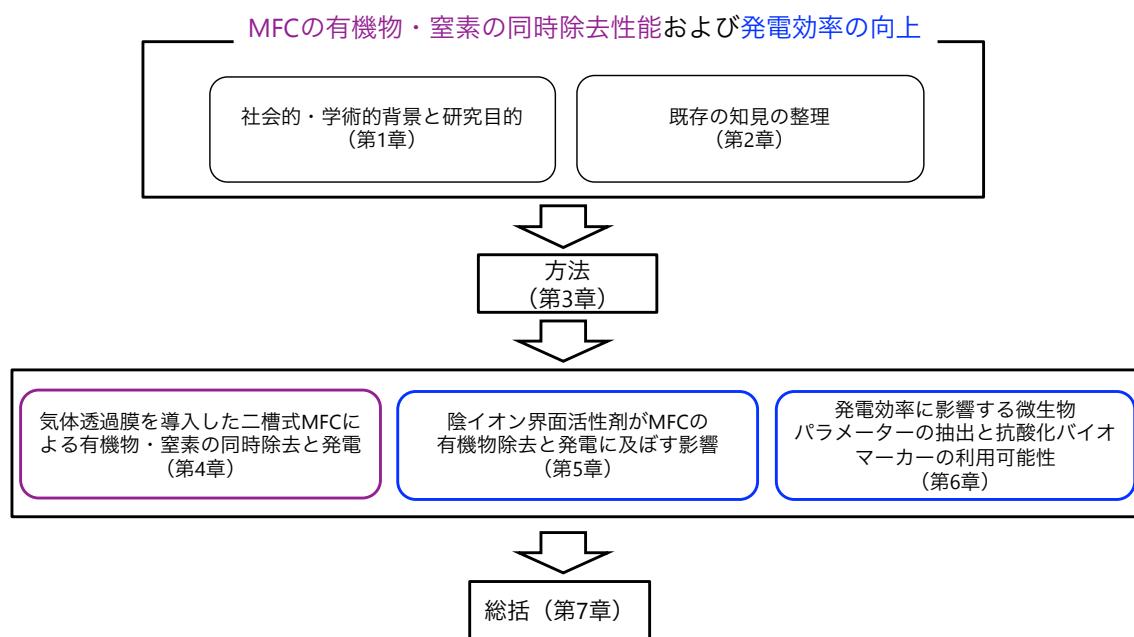


図 1.3.1 本論文の構成

第2章

既往の知見の整理

第2章 既往の知見の整理

1. 微生物燃料電池（MFC）による
有機物・窒素の同時除去
2. 界面活性剤
3. 抗酸化力

2.1 では、MFC の有機物除去・発電と窒素除去のメカニズムを整理した。また、クーロン効率（CE）の制限要因と改善策を述べた。2.2 では、界面活性剤の概要を及び MFC と界面活性剤に関する知見を述べた。また、本論文で対象とした直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（LAS）と生分解性を述べた。2.3 では、活性酸素種と抗酸化物質について整理し、微生物に関係する知見をまとめた。

=====

2.1 微生物燃料電池（MFC）による有機物・窒素の同時除去

2.1.1 MFC による有機物除去と発電

(1) MFC の概要

微生物燃料電池（Microbial fuel cells ; MFC）は発電微生物を利用して、有機物から直接電気エネルギーを取り出すことができる（Logan, 2006）。イギリスの Potter は初めて微生物から電気を取り出すことに成功した（Potter, 1991）。しかし、生産される電力の少なさや持続性の問題から、その後この分野での発展はそれほど大きくなかった（Logan, 2008）。1990年代初期、燃料電池への関心が高まれ、MFC も注目を集めたが、この時期での発電は外部から化学メディエーター（Mediator）あるいは電子シャトルの添加が必要であったため、その高いコストが MFC の発展を制約した（Santoro *et al.* 2017）。MFC の発展の幕が開かれたのは 1999 年であり、Kim ら（1999）はメディエーターがなくても発電できる微生物を見出した。メディエーターの投入を略すことにより、コストが抑えられ、発電効率も改善された。そこから MFC の研究が盛んに展開された（図 2.1.1）。図 2.1.2 に示したように、MFC の研究は有機物除去・発電にとどまらず、アノードとカソード側の反応を利用して、窒素（Feng *et al.* 2015）、りん（Hirooka *et al.* 2013）などの栄養塩類の除去の研究も多く報告されている。そして、そのような MFC で起こる反応を利用して 6 価クロム（Tandukar *et al.* 2009）などの有害重金属イオンの除去や硫化物の除去（Zhao *et al.* 2008）、バイオセンサー（Kim *et al.* 2007）の開発まで応用されている。また、MFC の発電のメカニズムを活用して、底質浄化を目的とした SMFC（Donovan *et al.* 2011）や脱塩を目的とした MDC（Luo *et al.* 2012）なども開発されている。さらに、これらの各種の微生物燃料電池にめぐり、その発電の向上や理解を深めるために、装置の構造、材料の開発、数学モデルの構築などの研究数多く報告されている。

MFC は 1 種類の電池であるので、アノードとカソードからなる。図 2.1.3 に示したように、アノードでは、有機物（電子供与体）が微生物により酸化分解されて、二酸化炭素（ CO_2 ）とプロトン（ H^+ ）が生成される。この反応に伴い、微生物体内で発生する電子は放出され電極で回収される。その後、電子は外部回路を経由してカソードに移動し、カソード極で酸化剤（電子受容体、図 2.1.3 においては O_2 ）及びアノードから陽イオン交換膜を通して拡散してくる H^+ と還元反応により水（ H_2O ）が生成される。このように、外部回路に抵抗を設けると電気エネルギーを回収することができる。

MFC の構造としては様々なタイプ（Logan, 2008）が報告されているが、大きく分けて 2 槽型と 1 槽型が存在する。2 槽型 MFC（図 2.1.3）ではアノード槽とカソード槽がプロトン交換膜で仕切られており、酸素などの酸化剤（フェリシアン化カリウムや酸化マンガンが使われることもあるが、コストがかからない大気中の酸素はよく利用される）はカソード槽へと供給される。このタイプは気密性が高いという利点があるが、酸素の水への溶解度が低いことから、酸素を酸化剤として使用する場合には通気が必要となる。一方 1 槽型 MFC（図 2.1.4）ではエアカソード（酸素正極）と呼ばれる膜タイプのカソードが使用される。

第2章 既往の知見の整理

エアカソードは酸素の透過性を持ち、大気中から透過した酸素は内側にコーティングされた白金触媒（カソード反応の触媒としては白金がよく使われる）により反応が進む。このシステムでは槽内に透過した余剰の酸素が微生物によって消費されるために有機物からのエネルギー回収効率は低くなるが、二槽型と比較してランニングコストが低く抑えられ、また内部抵抗が低くなるため得られる出力が高い傾向にある（Liu *et al.* 2004）。こうした利点から一槽型 MFC は近年多くの研究者に使用されている（Zhang *et al.* 2019）。

MFC は図 2.1.5 に示したように、化学電池に属する。同じように微生物燃料電池は、バイオマスを燃料としているため、バイオマス電池と呼ばれることもある（柿園、2009）。バイオ燃料電池は、酵素を触媒とする酵素燃料電池と微生物そのものを触媒とする微生物燃料電池に大きく分けられる。その基本的な発電原理は同じである。

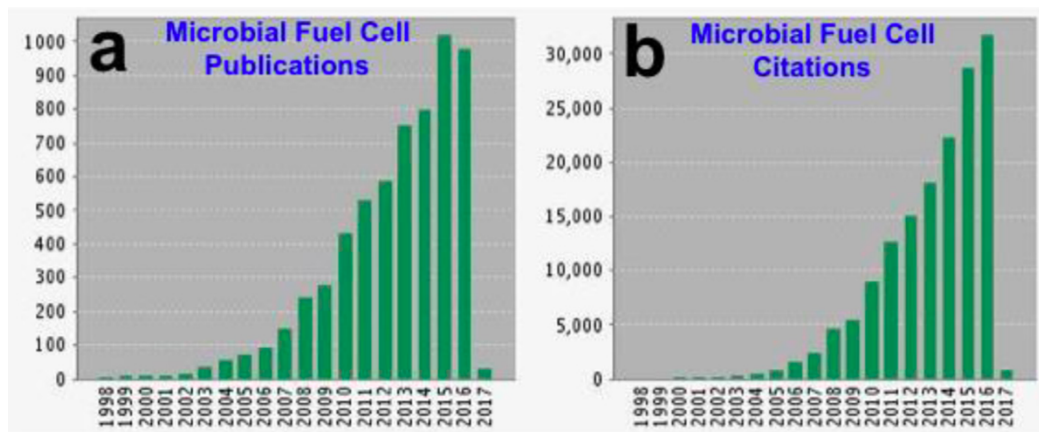


図 2.1.1 年間別 MFC の論文数 (a) と引用数 (b) (Santoro *et al.* 2017)

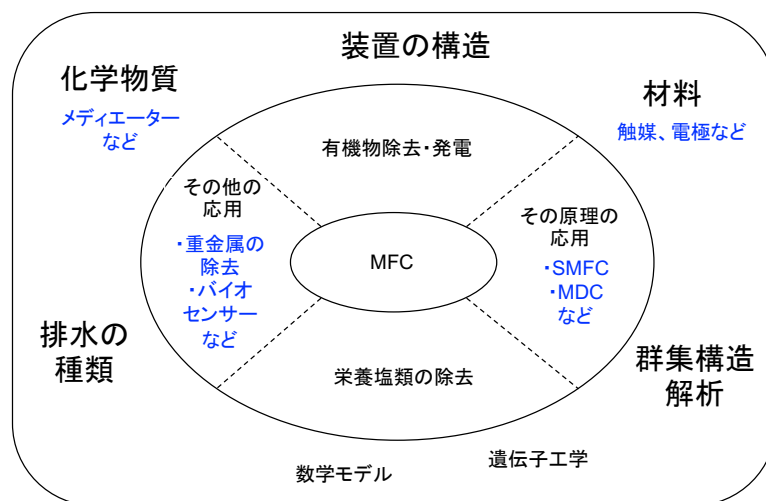


図 2.1.2 MFC に関する既往の研究

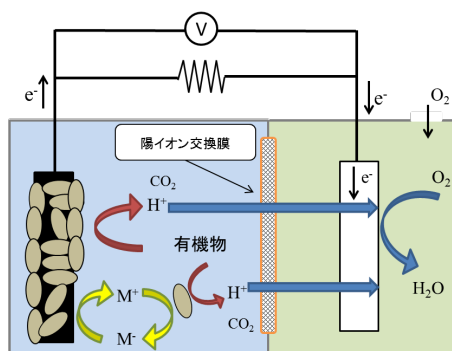


図 2.1.3 二槽型 MFC (M: メディエーター)

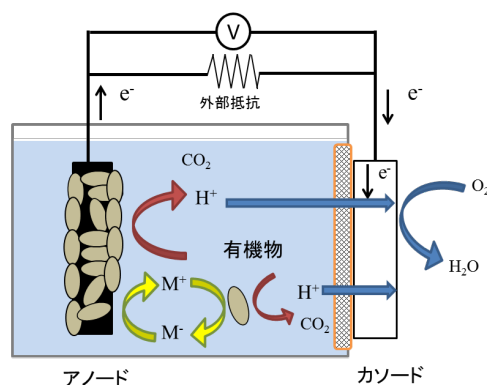


図 2.1.4 一槽型 MFC

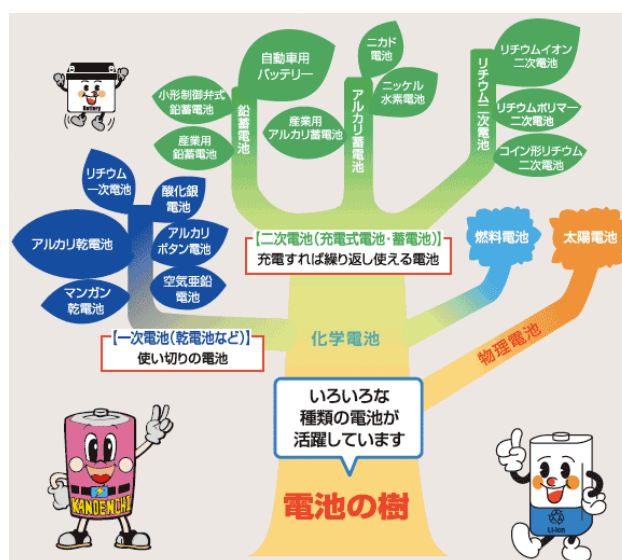


図 2.1.5 電池の分類 (電池工業会)

(2) 発電微生物の電子伝達

電子伝達反応は生物が生命を維持するために必要なエネルギーを得るための基本的な反応である (菅原, 2014)。呼吸鎖の電子伝達系はその代表例の一つで、そこで電子は酸化還元電位の低い物質 (電子供与体) から高い物質 (電子受容体) へと伝達される。その際に放出されるエネルギーはプロトン駆動力へと変換される。生物はその駆動力を利用して ATP を合成し、エネルギーを獲得する。多くの微生物は酸素 (O_2) を最終電子受容体とする好気呼吸を行うが、硝酸イオン (NO_3^-) や硫酸イオン (SO_4^{2-}) を用いて嫌気的な呼吸を行う微生物もいる。さらに酸化鉄 (III) や酸化マンガン (IV) などの金属酸化物を最終電子受容体として利用できる微生物 (異化的金属還元細菌) も存在する (高妻ら, 2009)。発電微生物はこのような微生物に属する。

発電微生物の中で *Shewanella* と *Geobacter* 属細菌はモデル微生物として研究が進められてきた (Palanisamy *et al.* 2019)。その細胞外電子伝達の分子機構は図 2.1.6 に示したように 2

つのタイプがある。一つは細胞外膜にあるシトクロム c または導電性の繊維毛 (nanowire) による直接的な電子伝達であり (*Geobacter* 属細菌と *Shewanella* 属細菌)、もう一つは電子伝達物質 (メディエーター; 図 2.1.7) を介して間接的な経路により細胞外の電子受容体を還元する (*Shewanella* 属細菌) (高妻ら、2009)。ちなみに、*Geobacter* 属細菌は絶対嫌気性細菌で、*Shewanella* に属する *Shewanella oneidensis* MR-1 株は通性嫌気性細菌である (吉野ら、2006)。

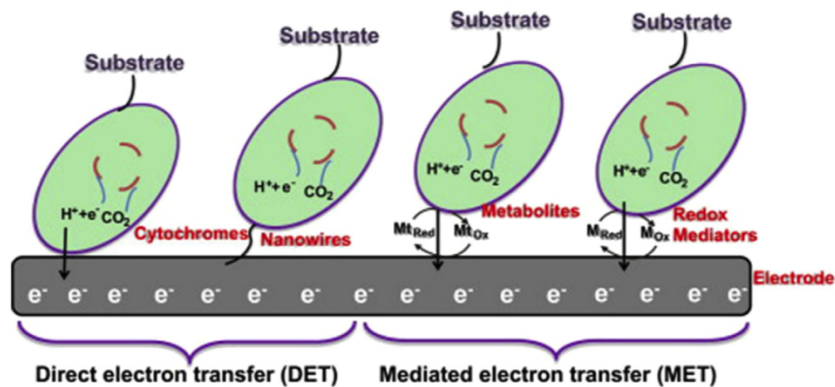


図 2.1.6 発電微生物の電子伝達 (Palanisamy *et al.* 2019)

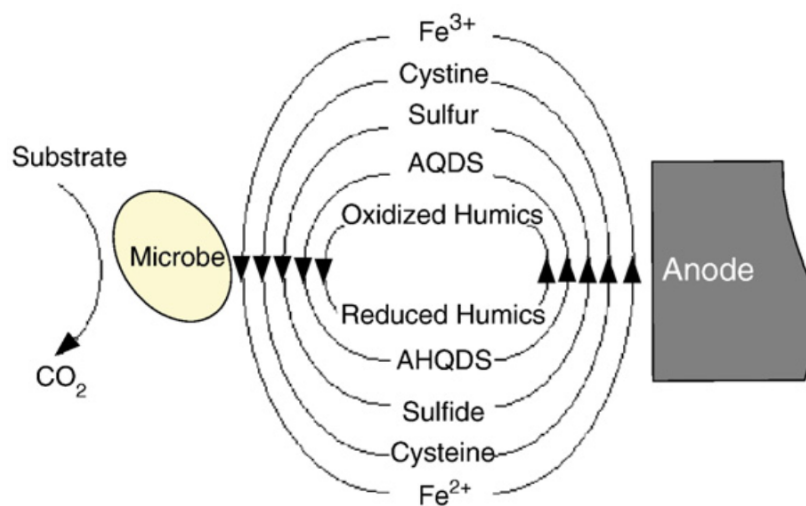


図 2.1.7 メディエーターとなる物質 (Du *et al.* 2007)

2.1.2 MFCにおける有機物・窒素除去に係わる各種プロセス

前述したように、MFCのカソード側の還元反応を利用することにより、排水中の窒素を除去することができる。つまり、酸素の代わりに亜硝酸塩 (NO_2^- -N) または硝酸塩 (NO_3^- -N) を電子受容体として使用することで、窒素除去を達成する (Virdis *et al.* 2008)。ここでのポイントとなるのは、排水中の NH_4^+ -N を NO_2^- -N または NO_3^- -N に変換することである。

多くの研究では二槽式や三槽式の MFC を開発して NH_4^+ -N 除去を試みた (Virdis *et al.* 2010; Zhang *et al.* 2013; Sotres *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2014)。しかし、いずれも外部エネルギーを加えてカソード槽で曝気を行っていた。Yan ら (2012) はポリテトラフルオロエチレン (PTFE ; エアカソード MFC でよく使用される) カソードで作られたエアカソード MFC を用いて、 NH_4^+ -N 除去を達成したと報告している。しかし、PTFE の酸素透過性は限られている (Bronzino, 1999)。これに対して、気体透過膜は比較的に高い酸素透過性を持っており、これまでに MFC での NH_4^+ -N 除去にも使われている (Gong *et al.* 2007; Terada *et al.* 2006; Hu *et al.* 2009; Yu *et al.* 2011)。しかし、いずれもポンプでチューブ状気体透過膜に空気を送気しており、MFC で回収できた電気エネルギーを損じることになる。

2.1.3 クーロン効率 (CE) の制限要因とその改善策

CE を低下させる要因はいくつがあり (Logan, 2006)、i) アノード槽にアノード呼吸微生物 (発電細菌) 以外の微生物が存在すること (例えば、メタン生成古細菌)、ii) 基質の中に硫酸イオン、硝酸塩イオンなどの電子受容体が存在すること、iii) アノード槽に酸素が浸入してくること (アノードに好気性微生物がいる) が挙げられる。

1.1.5 で述べたように、装置の構造上や材料開発の面で iii) に対応することが可能であるが、i) と ii) に対応しがたい。したがって、化学的、生化学的な視点から i) と ii) の対応策を検討することが重要と考えられる。また、MFC は微生物学、生化学、電気化学などが複雑に絡まっているものであるため (Do *et al.* 2018)、CE を改善するためのポイントを整理することが難しい。一方、数学モデルはこのような問題に対して強力なツールであるため (Ou *et al.* 2016)、その活用も期待できる。

2.2 界面活性剤

2.2.1 界面活性剤の概要

界面活性剤は表面張力を弱める作用の他に、界面活性剤の水中の濃度を高めると、分子が大量に集まって親水基を外側にしてミセルという球体を形成する性質があることから、洗浄剤だけではなく、化粧品や食料品や薬、コンクリートの製造時など様々な場面で使われている（日本産業洗浄協議会、2011）。

界面活性剤の構造を図 2.2.1 に示す。界面活性剤には親水基が水中で電離してイオンとなるものが 3 種類、イオンにならないものが 1 種類の計 4 種類がある。そして、親水基がマイナスに電離するものを陰イオン界面活性剤、プラスに電離するものを陽イオン界面活性剤、アルカリ性水溶液中では陰イオン界面活性剤、酸性水溶液中では陽イオン界面活性剤の性質を示すものを両性界面活性剤という。この 4 種類の界面活性剤は、親水基や疎水基の種類や原料によって更に細かく分けられる。そして、それぞれ異なる性質があり、用途によって使い分けられている。

日本での界面活性剤の年間全国出荷量は洗浄剤や化粧品に含まれているだけで、約 18 万トンである。その内訳をみると、非イオン界面活性剤の一つであるポリアルキルエーテル（AE）が全国出荷量の約 60%を占めており、現在も増加が続いている。次いで陰イオン界面活性剤の一つである直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）が約 25%を占め、ここ十数年減少している（経済産業省、2014）。この二つで約 9 割を占め、次いで陽イオン界面活性剤、両性界面活性剤の順に続く。

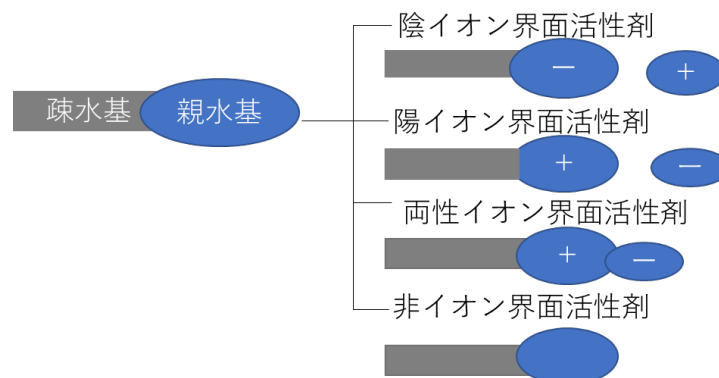


図 2.2.1 界面活性剤の構造と種類

2.2.2 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（LAS）と生分解

LAS は洗浄力と浸透力に優れており安価であることから、家庭用の合成洗剤の主力界面活性剤として大量に使われている。しかし、河川や下水処理場での発泡問題や、水生生物への毒性、他の界面活性剤と比較して生分解性が低いという問題点もある（Ohya、2006）。また、水中に電解質が多いと吸着性が高くなるという特徴もある。LAS の構造は図 2.2.2

第2章 既往の知見の整理

に示した。LAS にはアルキル基の炭素数が 10 から 14 の同族体があり、それぞれをアルキル基の炭素数が少ない順に、デシルベンゼンスルホン酸 (C₁₀)、ウンデシルベンゼンスルホン酸 (C₁₁)、ドデシルベンゼンスルホン酸 (C₁₂)、トリデシルベンゼンスルホン酸 (C₁₃)、テトラデシルスルホン酸 (C₁₄) である。

これまでに、好気条件での LAS 分解は多く報告されている (Larson *et al.* 1993)。LAS はアルキル基の末端から好気性微生物に酸化され低分子化される (Tsuji *et al.* 2009)。また、アルキル基の炭素数が多い LAS ほど生分解されやすいという特性がある。一方、LAS は嫌気条件で分解されにくいというのが一般的な認識であったが、最近では UASB 法 (Okada *et al.* 2014) や EGSB (Centurion *et al.* 2018) 等における LAS の嫌気性分解も報告されている。その分解経路はアルキル鎖へのフマル酸付加から、続いて β-酸化反応、環開裂および脱スルホン化の 4 段階に分けられることが報告されている (Delforno *et al.* 2019)。

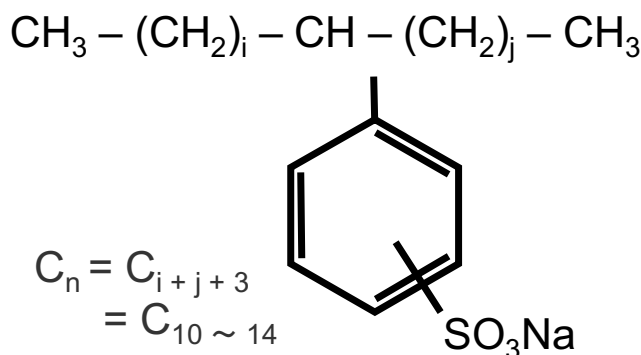


図 2.2.2 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 (LAS) の構造式

2.2.3 MFC における界面活性剤の応用

MFC においても、アノードの親水性等を改善するための前処理剤として、界面活性剤はよく使われている (Kun *et al.* 2014)。Wen ら (2011) は非イオン界面活性剤のひとつである Tween 80 をエアカソード型 MFC に添加したところ、最大出力密度が約 10 倍向上したことを報告している。その理由として、Tween 80 は付着生物膜内の透過性を改善し、細胞膜での電子移動の抵抗を減少させたことを挙げている (Wen *et al.* 2011)。ただし、有機物である Tween 80 が、電子供与体として出力に寄与したか否か等については触れられていない。

一方、イオン性の界面活性剤もよく使用されている。Dereszewska ら (2015) は、陰イオン界面活性剤のひとつである LAS の負荷が 15mg/g-VSS 以上になると、活性汚泥の酸素呼吸が抑制され、りん除去率も低下したことを報告している。微生物の膜輸送では細胞膜を介した pH 勾配とともに電荷勾配が重要である (Comeau *et al.* 1986)。そのため、陰イオン界面活性剤が持つイオン性親水基は、電荷勾配に影響する可能性がある。したがって、陰イオン界面活性剤は MFC の付着生物膜に対して、非イオン界面活性剤とは異なる影響を及ぼす可能性がある。しかし、陰イオン界面活性剤が付着生物膜に与える影響についての知見はほとんどない。

2.3 抗酸化力

2.3.1 生体内の抗酸化機構

(1) 活性酸素種 (ROS)

多くの生物は呼吸により酸素 (O_2) を取り込み、エネルギーを獲得している。体内に取り込んだ酸素のうち約 95% は完全にエネルギーの合成に用いられ、最終的には水となり排出されるが、約 5% の酸素はエネルギー合成の過程においてスーパーオキシドアニオン ($O_2^{\cdot-}$)・過酸化水素 (H_2O_2)・ヒドロキシラジカル ($\cdot OH$)・一重項酸素 (1O_2) などの中間体となる (Regoli, 2000)。これらの物質は反応性が高いため、活性酸素種と呼ばれる。

スーパーオキシドアニオン ($O_2^{\cdot-}$) は酸素分子に電子が一つ取り込まれた一電子還元体である。一般的に知られているラジカル (反応性に富んだ化学種) に比べると反応性は低く、ほかの活性酸素種の前駆体となる (吉川, 2011)。

過酸化水素 (H_2O_2) は不対電子を持っておらず、ラジカルではない。しかし、ヒドロキシラジカルを生成する不安定な性質を持っており、活性酸素として扱われる。

ヒドロキシラジカル ($\cdot OH$) は活性酸素種の中で最も酸化力が強く反応性に富んでいる。これは、生成した場所の近くに存在するタンパク・核酸・脂質といったあらゆる化合物と速やかに反応する。生体では $O_2^{\cdot-}$ や H_2O_2 といった前駆物質から生成される (大坂, 1999)。

一重項酸素 (1O_2) には不対電子は存在しないが、強い求電子性を持つものである (吉川, 2011)。

(2) 抗酸化物質

抗酸化物質は、生体内の余分な活性酸素種を除去するための化合物の総称である (Regoli, 2000)。活性酸素を除去する抗酸化物質の中で最も重要な位置を占めるのがスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) やカタラーゼ (CAT)、グルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) などの酵素である (寺尾, 2009)。

スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) は、 $O_2^{\cdot-}$ を触媒反応により、 O_2 と水に中和する酵素である。また、この反応で生成される H_2O_2 はさらにカタラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼなどにより最終的に無害な水になる。カタラーゼ (CAT) は、すべての好気性生物に含有する酵素である。 H_2O_2 を迅速に水と O_2 に分解する能力を持っている (Mallick, 2000)。

活性酸素種は反応性が高く、細胞膜、DNA 等にダメージを与えるため、生物は生成された活性酸素を除去する能力を持っている (図 2.3.1)。この防御のために生物が作り出した物質は抗酸化物質である。

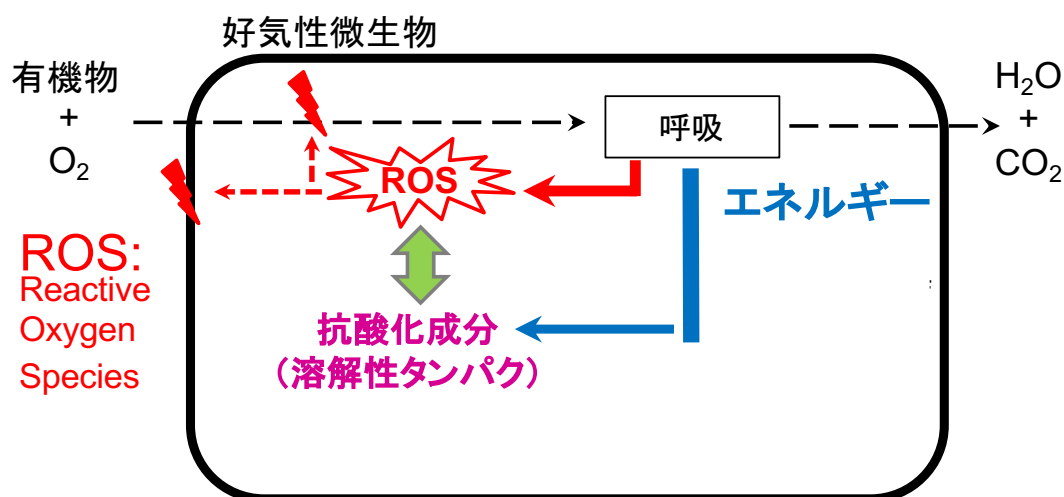


図 2.3.1 生体内の抗酸化機構

2.3.2 総抗酸化力

好気性生物はストレス環境下において体内で活性酸素種が増加することが知られている (Regoli, 2000)。しかし、活性酸素種は反応性が高いため、定量するのが難しい。前述したように、生物は余分な活性酸素種から細胞を守るために抗酸化物質を合成する。この原理を利用して、二枚貝などの水生生物の研究では、抗酸化物質をストレスバイオマーカーとして利用されている (池田ら, 2016)。これにより、生物が外部からストレスを受けているか否かを判断することができる。

これまでに、抗酸化物質である SOD や CAT などを定量する手法が確立されている (Suzuki *et al.* 2018)。また、これらの抗酸化物質を一括に評価する手法も報告されている。その中で、TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity) 法を海生二枚貝に適用した研究例が多い (Nahrgang *et al.* 2013)。近年、マイクロプレートリーダを用いた蛍光分析により総抗酸化力を定量できる ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) 法は、ガスクロマトグラフィー分析に基づく TOSC 法よりも簡便かつ迅速な測定が可能となるため、使用した研究例が増えてきている (Pokhrel *et al.* 2019)。

2.3.3 微生物の抗酸化力

好気性微生物では活性酸素種の生成と抗酸化物質の合成が行われている。Cabiscoll ら (2000) はその抗酸化機構をまとめている。しかし、水生生物や植物と比べ、微生物の抗酸化力に着目した研究例は限られている。医学の分野において、Durán ら (2016) はナノ銀粒子による大腸菌の細胞内で ROS が発生すると報告されている。Park ら (2019) も同じような報告をしている。しかし、微生物の抗酸化力に着目したものではない。

第3章 方法

第3章 方法

- 3.1 研究背景
- 3.2 目的
- 3.3 研究の構成

本章では、第4章、第5章、第6章の検討を行うにあたり、実験、分析、解析の方法についてまとめた。

=====

3.1 気体透過膜の受動的酸素供給性能と付着した生物膜の硝化性能の評価

3.1.1 シリコン膜の総括酸素移動容量係数の評価

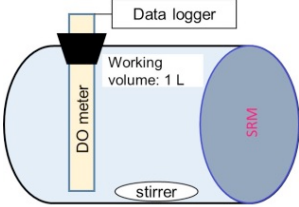
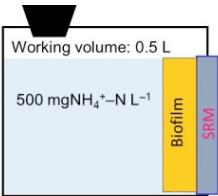
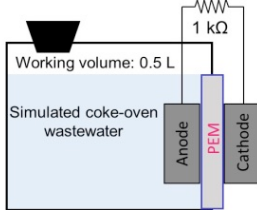
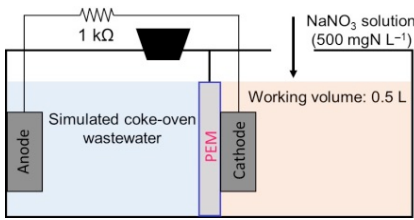
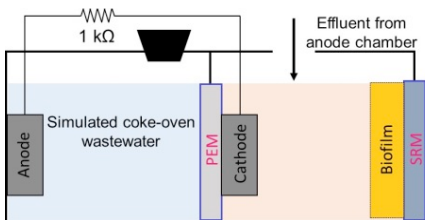
有効容量 1 L の円筒状アクリル (SRM reactor) (直径 9cm、高さ 15.7 cm) (表 3.1.1 A ; 図 3.1.1) を用いて、3 種類のシリコン膜 (Shin-Etsu Chemical Corp., Japan) の酸素透過性能を調べた。3 種類のシリコン膜を A (KE-931-U ; 硬度デュロ A : 31 ; 厚さ : 0.5 mm ; 23°C での密度 : 1.07 g cm^{-3})、B (KE-551-U ; 硬度デュロ A : 50 ; 厚さ : 0.5 mm ; 23°C での密度 : 1.14 g cm^{-3})、および C (KE-581-U ; 硬度デュロ A : 19 ; 厚さ : 0.5 mm ; 23°C での密度 : 1.24 g cm^{-3}) とした。装置の片側にはそれぞれシリコン膜 A、B、または C を設置した。流入水を窒素ガスで脱気した後、外気に接触しないように密閉した。シリコン膜の代わりにアクリル板で密閉したものを対照系とした。3 種類のシリコンゴム膜の受動的酸素供給性を評価するために装置をインキュベーター (30 °C、1 大気圧) で運転し、溶存酸素 (DO) を連続的に測定した。1 サイクルの運転は 12 時間であり、総括酸素移動容量係数 (K_{La}) は式 (3.1.1)、(3.1.2) を用いて計算した。得られた K_{La} と DO ($0 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$) を式 (3.1.1) に代入して最大酸素供給速度を算出した。

$$\frac{dDO}{dt} = K_{La}(DO_s - DO) \quad (3.1.1)$$

$$K_{La} = \frac{2.303}{t_2 - t_1} \log \frac{DO_s - DO_1}{DO_s - DO_2} \quad (3.1.2)$$

ここで、DO は溶存酸素 ($0 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)、 DO_s は飽和溶存酸素 ($0 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)、 DO_1 と DO_2 はそれぞれ時刻 t_1 ($t_1=0 \text{ h}$) と t_2 ($t_2=12 \text{ h}$) における溶存酸素 ($0 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)、 K_{La} は総括酸素移動容量係数である (L d^{-1})。

表 3.1.1 装置と評価項目

Reactors / MFCs	Investigation items
<p>(A) SRM reactor</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Volumetric oxygen mass transfer coefficient ($K_L a$) • Theoretical nitrification rate
<p>(B) SRM-biofilm reactor</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Nitrification rate • NH_4^+-N residual ratio • NO_2^--N accumulation ratio
<p>(C) Air-cathode MFC</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Organic matter removal
<p>(D) Two-chamber MFC</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Electricity generation
<p>(E) Dual-chamber MFC</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Organic matter removal (in anode chamber) • Nitrogen removal (in cathode chamber) • Electricity generation • Break down of nitrogen removal

SRM: Silicon rubber membrane

PEM: Proton exchange membrane

A

B

第3章 方法

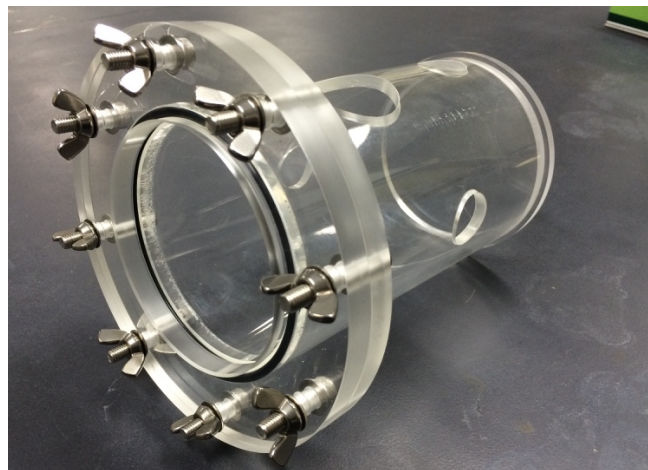
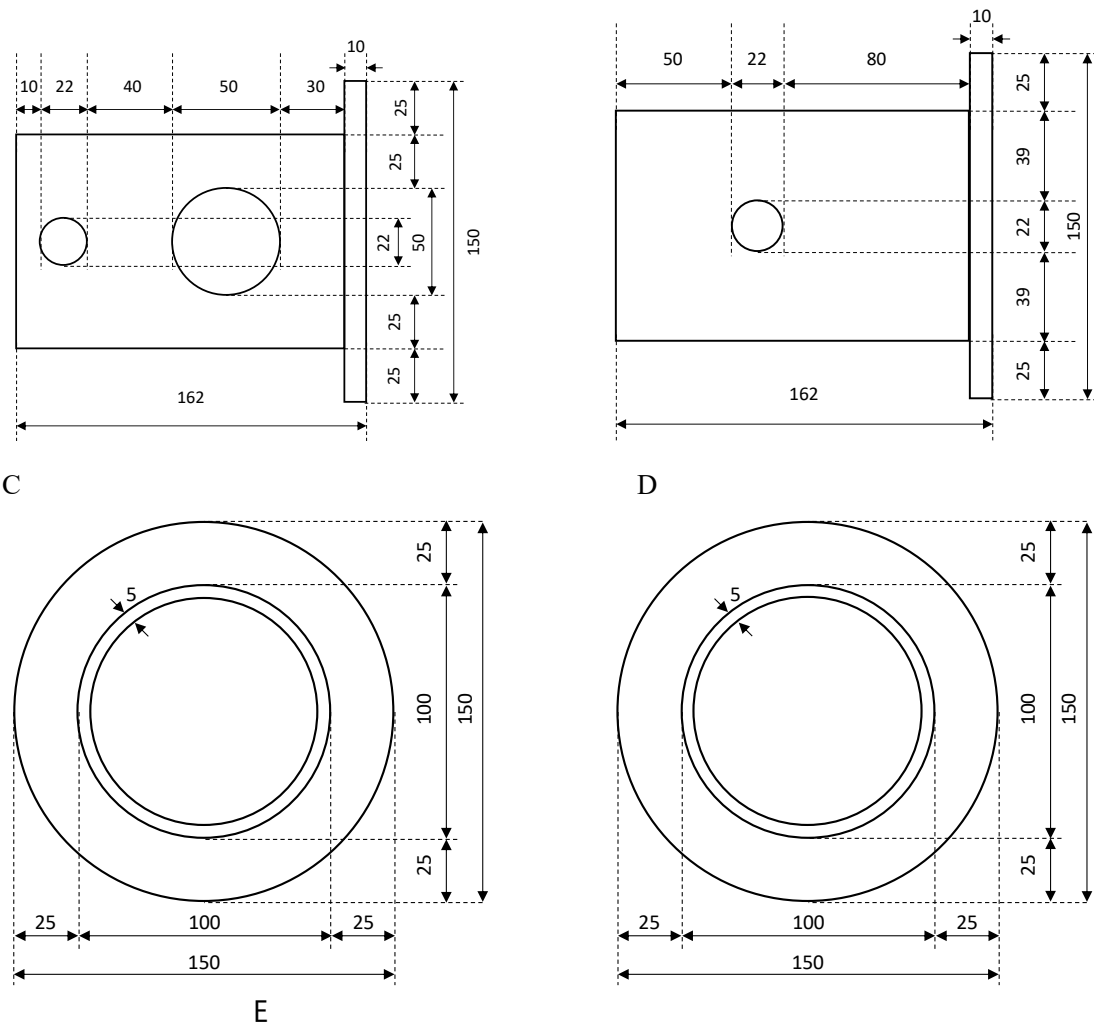
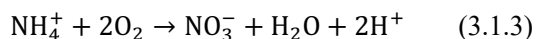


図 1.1.1 円筒型装置 : A 平面図; B 立面図; C 左側面図; D 右側面図; E 装置の写真

3.1.2 シリコン膜による理論的硝化速度の推定

1 gN の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ を $\text{NO}_3^-\text{-N}$ に酸化するには、式 (3.1.3) に示したように、4.57 gO₂ の酸素が必要である。この変換係数 (4.57 gO₂ gN⁻¹) と最大酸素供給速度を利用して、供給されたすべての酸素が $\text{NH}_4^+\text{-N}$ から $\text{NO}_3^-\text{-N}$ への酸化に利用されたと仮定して、理論硝化速度を計算した。



3.1.3 硝化細菌生物膜の形成と馴致

都市下水処理場から採取してきた活性汚泥を 4 L の装置に接種した。人工基質と海水で作成したものを流入水 (2 L) とした。流入水は 9.4390 g (NH₄)₂SO₄、3.1556 g NaHCO₃、0.012 g KH₂PO₄ と 0.1 L の微量元素を含有した (Smolders *et al.* 1994)。最終的な装置内の窒素濃度は 500 mgN L⁻¹ であった。装置の運転は連続バッチ式で、水温 30 °C で、pH 7.5±0.1 で 110 日間行った。流入水中の海水濃度は徐々に増やされ、最終的に 68% (v v⁻¹) に調整されました。

このように馴致した汚泥 (0.8 g MLSS L⁻¹) を 9 [L] cm×8 [W] cm×10 [H] cm の 0.6 L アクリル角形装置 (SRM-biofilm reactor) に接種した (表 3.1.1 B)。装置の片側は、シリコン膜 A (有効面積 72 cm²) を設置した。ここで使用した膜 A は最も高い受動的酸素供給性能を示したものであり、その詳細は 4.2.1 で説明する。また、別途に運転したコークス炉模擬排水を処理するエアカソード型 MFC (表 3.1.1 C; 図 3.2.1) の処理水 (0.3 L) に、(NH₄)₂SO₄ を添加し、最終的な窒素濃度が 1000 mgN L⁻¹ にしたものを流入水とした (SRM-biofilm 装置内の窒素濃度が 500 mgN L⁻¹)。装置は水温 30 °C、pH 7.5±0.1、連続バッチ式により運転した。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ が概ね除去された後、攪拌を止めて装置内で浮遊した汚泥を沈降させた。浮遊した汚泥を引き抜かないように 0.3 L の処理水を排水した。生物膜がシリコン膜に十分に付着するまで 45 日間の運転を続けた。

45 日間の運転後、エアカソード型 MFC (表 3.1.1 C; 図 3.2.1) からの 0.5 L の処理水を流入水として SRM-biofilm 装置に流入させた。この流入水には ~30 mgC L⁻¹ の溶存態有機炭素 (DOC) が含まれており、エアカソード MFC で除去できないものであった。また、最終的な流入水の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度が 500 mgN L⁻¹ になるように、(NH₄)₂SO₄ を添加した。水温と pH は前述の条件と同じであった。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ が概ね除去された後、浮遊した汚泥を含む 0.5 L の処理水を排水した。1 サイクルの運転を 10~15 日にした。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 残存率および $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 蓄積率はそれぞれ式 (3.1.4) と (3.1.5) を用いて計算した。

第3章 方法

$$\text{NH}_4^+ - \text{N residual ratio} = \frac{\text{NH}_4^+ - \text{N concentration in effluent}}{\text{NH}_4^+ - \text{N concentration in influent}} \quad (3.1.4)$$

$$\text{NO}_2^- - \text{N accumulation ratio} = \frac{\text{NO}_2^- - \text{N concentration}}{\text{NO}_2^- - \text{N} + \text{NO}_3^- - \text{N concentrations}} \quad (3.1.5)$$

3.1.4 硝化試験

シリコーン膜に付着した生物膜の硝化性能を評価するために、 NH_4Cl 、 NaSCN (0.13 g L^{-1})、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.58 g L^{-1})、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.05 g L^{-1})、 NaHCO_3 (4.55 g L^{-1})と海水 ($68\% \text{ v v}^{-1}$) (Sueoka *et al.* 2009) で作られたコークス炉模擬排水 (有機物が含まない) (表 3.1.2) を用いて硝化試験を行った。 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ の初期濃度は NH_4Cl を用いて 20、40 と 600 mgN L^{-1} に調整した。また、槽内を曝気しながら飽和値付近の DO の条件で、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 初期濃度を 600 mgN L^{-1} にした試験も行った。これらの 4 つの硝化実験は SRM-biofilm 装置で行った (運転開始 81 日以後)。硝化試験では処理水を定刻ごとにサンプルし、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ と $\text{NO}_3^- - \text{N}$ を分析した。硝化速度は $\text{NO}_2^- - \text{N}$ と $\text{NO}_3^- - \text{N}$ の総濃度に基づいて算出した。

$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ の初期濃度が 20、40 と 600 mgN L^{-1} のとき、生物膜内の DO 濃度は、式 (3.1.6) を使用して推定した。

$$\gamma = \frac{\mu_{\max}}{Y} \frac{S_{\text{NH}_4}}{K_{\text{NH}_4} + S_{\text{NH}_4}} \frac{S_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2} + S_{\text{O}_2}} X, \quad (3.1.6)$$

ここで、 γ は硝化速度 ($\text{mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$)、 μ_{\max} は硝化細菌の最大比増殖速度 (1.0 d^{-1})、 Y は増殖収率 ($0.24 \text{ gCOD gN}^{-1}$)、 S_{NH_4} と S_{O_2} はそれぞれ $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ (mgN L^{-1}) と O_2 ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$) の濃度である。 K_{NH_4} と K_{O_2} はそれぞれ $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ (1.0 mgN L^{-1}) と DO ($0.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) の飽和定数で、 X は硝化細菌の濃度 (mgCOD L^{-1}) である。

まず、 X は曝気試験で得られた硝化速度と初期 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度 (600 mgN L^{-1}) をそれぞれ式 (3.1.6) における γ と S_{NH_4} に代入することで推定した。このときに曝気を行ったので、 $S_{\text{O}_2} (K_{\text{O}_2} + S_{\text{O}_2})^{-1}$ は 1 とした。推定した X はすべての試験で同じであると仮定した。次に、20、40 と 600 mgN L^{-1} の試験における S_0 は、各試験での硝化速度、初期 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度と推定した硝化細菌濃度をそれぞれ式 (3.1.6) の γ 、 S_{NH_4} および X に代入して計算した。

表 3.1.2 コークス炉模擬排水組成 (20 倍濃縮)

試薬名	Reagent	測定量 (g/L)
フェノール	C ₆ H ₅ OH	11.00
チオシアン酸ナトリウム	NaSCN	2.60
塩化アンモニウム	NH ₄ Cl	35.00
チオ硫酸ナトリウム五水和物	Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O	11.60
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	1.00
炭酸水素ナトリウム	NaHCO ₃	91.00

3.2 実験室規模の MFCs の運転とその数学モデル

3.2.1 コークス炉模擬排水を処理する MFCs と運転

(1) エアカソード型 MFC

海水で希釈したコークス炉模擬排水を流入水とした MFC の処理性能を評価するために、9 [L] cm×8 [W] cm×10 [H] cm (アクリル角型) エアカソード型 MFC を使用した (表 3.1.1 C; 図 3.2.1)。アノード槽の有効容積は 0.5 L であった。アノード電極は投影面積が 28 cm² のカーボンフェルト (LFP-205、Osaka Gas Chemicals、Japan) を用いた。カソード電極は、投影面積が 28 cm² のカーボンペーパー (0.5 mg cm⁻²) (EC-10-05-07、TOYO Corp.、Japan) を使用した。前処理を実施していないイオン交換膜 (PEM) (Nafion 117、DuPont、USA) をセパレータとして使用した。電極間の距離は約 2.5 cm であり、Cu 線で 1k Ω の外部抵抗およびアノードとカソード電極を繋げた。

製鋼工場から譲渡していただいた活性汚泥を接種源として、C₆H₅OH (0.55 g L⁻¹)、NaSCN (0.13 g L⁻¹)、NH₄Cl (1.75 g L⁻¹)、Na₂S₂O₃·5H₂O (0.58 g L⁻¹)、Na₂HPO₄·12H₂O (0.05 g L⁻¹)、NaHCO₃ (4.55 g L⁻¹) と海水 (68% v v⁻¹) を含有するコークス炉模擬排水 (Sueoka *et al.* 2009) を流入水とした 1 L の装置を 200 日間運転した。装置内の有機物濃度は 500 mgC L⁻¹ であった。連続バッチ式で運転し、水温を 30°C とした。

このように馴致した汚泥を用いてエアカソード型 MFC に接種した。エアカソード型 MFC は、前述したコークス炉模擬排水で運転した。MFC の気相を N₂ ガスで置換した。MFC を水温 30°C で 125 日間にわたり連続バッチ式で運転した。初期 pH を 7.5 に調整した。1 サイクルの運転は～8 日であった。有機物が概ね除去された後、攪拌を止め、0.25 L の処理水を排水した。

(2) 二槽式 MFC (Two-chamber MFC)

コークス炉模擬排水を処理しながら、NO₃⁻-N を電子受容体とした Two-chamber MFC の発電性能を評価した。Two-chamber MFC は、アノード槽とカソード槽で構成されていた (表 3.1.1 D)。本 MFC は、エアカソード MFC のアノード槽を使用し、カソード槽の構成はアノード槽と同じであった。PEM をセパレーターとして使用し、カソード電極とアノード電

第3章 方法

極との間の距離は約 9 cm であった。アノード槽の運転は、エアカソード型 MFC と同じ条件で行った。0.5 L の NaNO_3 溶液 (500 mgN L^{-1}) を電子受容体としてカソード槽に流入し、 $1 \text{ k}\Omega$ の外部抵抗を電極間に配置した。アノード槽で有機物が概ね除去された後、MFC で攪拌を止め、アノード槽とカソード槽から 0.5 L の処理水を排水した。1 サイクルの運転は～15 日間であり、合計 2 サイクルの運転が行われた（合計 30 日間）。

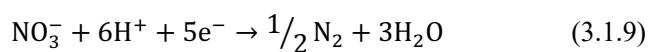
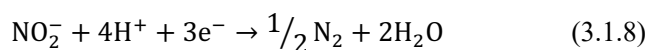
(3) シリコン膜を導入した二槽式 MFC (Dual-chamber MFC)

シリコン膜を導入した Dual-chamber MFC を用いて、コークス炉模擬排水の有機物および受動的酸素供給による窒素除去性能、そして発電性能を評価した。Two-chamber MFC のアノード槽および SRM-biofilm 装置を、それぞれ Dual-chamber MFC のアノード槽とカソード槽として使用した(表 3.1.1 E)。アノード槽は Two-chamber MFC と同じ条件で運転した。アノード槽からの処理水をカソード槽に注入させた。この流入水には、アノード槽で除去されなかった～ 30 mgC L^{-1} の DOC を含んでいた。アノードとカソードとの間に $1 \text{ k}\Omega$ の外部抵抗を配置した。MFC の電圧が 0.05 V 以下になったとき、0.5 L の処理水を両方の槽から排水した。Dual-chamber MFC をインキュベーター (30°C 、1 大気圧) 中で 10 日間運転した。

Dual-chamber MFC では、電気化学的脱窒 (Puig *et al.* 2012)、硝化細菌の窒素同化、および生物学的脱窒によって、カソード槽で窒素を除去することができる。電気化学的脱窒については、アノード電極からカソード電極へ移動したクーロンは、式 3.1.7 によって推定された総クーロンと CE を使用して計算された。そして、式 3.1.8 と式 3.1.9 (Feng *et al.* 2015) を用いて、電子受容体がそれぞれ NO_2^- -N あるいは NO_3^- -N のときの窒素除去量を推定した。硝化細菌の同化による窒素除去については、カソード槽で除去された NH_4^+ -N の量、硝化細菌の増殖収率 ($0.24 \text{ gCOD gN}^{-1}$) (Henze *et al.* 2000)、および硝化細菌の窒素含有量 ($0.0875 \text{ gN gCOD}^{-1}$) (Henze *et al.* 2000) を用いて、窒素の除去量を推定した。なお、 NH_4^+ -N は Nafion 膜を通してアノード槽からカソード槽に移動することができる (Kuntke *et al.* 2015) ため、アノード槽の NH_4^+ -N (500 mgN L^{-1}) がそれぞれカソード槽に輸送されるとき、輸送されないときの条件で推定が行われた。生物学的脱窒については、実際の窒素除去量から、推定された電気化学的脱窒と硝化細菌の窒素同化の窒素除去量を用いて算出した。

$$\text{Total coulombs} = \frac{aFV\Delta\text{DOC}}{bM} \quad (3.1.7)$$

ここで、 a は 1 mol の酸素が還元反応で消費する電子の数 ($4 \text{ e}^- \text{mol}^{-1}$)、 F はファラデー定数 (96500 C mol^{-1})、 V は陽極室の作動容積 (L)、 ΔDOC は 1 サイクルでの DOC の変化 (mgC L^{-1})、 b はフェノールの変換係数 ($3.11 \text{ gC gCOD}^{-1}$)、そして M は酸素の分子量 (32 g mol^{-1}) である。



3.2.2 LAS が含まれた排水を処理するエアカソード型 MFC

エアカソード型 MFC は表 3.1.1 C に示した装置と同じであり、その構造を図 3.2.2 に示した。植種源として、公共下水処理場から採取した標準活性汚泥を用いた。アノード槽の有効容積は 0.5L とし、アノードにはカーボンフェルト (4cm×7cm、Osaka Gas Chemicals、Japan) を用いた。カソードには白金 0.5mg-Pt/cm² を塗布したカーボンペーパー (4cm×7cm、EC-10-05-07、TOYO Corp.、Japan) を用いた。両電極間の距離は約 2.5cm とした。また、閉回路を構築するために、アノード、カソードおよびその間にそれぞれチタン線、ステンレス板 (SUS304)、銅線を用いた。陽イオン交換膜にはナフィオン膜 (Nafion 117、DuPont、USA) を使用した。水漏れを防ぐために、ナフィオン膜とアノード槽の間に厚さ 1mm のシリコーン膜を挿入した。外部抵抗は 100Ω とした。

0.5L の流入水の組成は、酢酸 (100mg-C/L)、リン酸緩衝液 50mM (Liu and Logan、2004)、微量金属 (Adrian *et al.* 2006) 0.5mL とし (表 3.2.1)、水温は 30℃ とした。槽内上部は密閉し、アノード槽の気相は窒素ガスで置換した。アノード槽内を完全混合させるために、マグネティックスターラーで攪拌した。MFC の 1 サイクルの運転は約 1 日であり、サイクル終了直前に 0.5L の処理水を全量引き抜く運転を 150 サイクルにわたり継続した。

表 3.2.1 微量金属元素溶液 (1000 濃縮)

試薬名	Reagent	測定量(g/L)
塩化鉄(III)六水和物	FeCl ₃ ・6H ₂ O	1.5
ホウ酸	B(OH) ₃	0.15
硫酸銅(II)五水和物	CuSO ₄ ・5H ₂ O	0.03
ヨウ化カリウム	KI	0.18
塩化マンガン(II)四水和物	MnCl ₂	0.12
モリブデン酸ナトリウム二水和物	Na ₂ MoO ₄	0.06
硫酸亜鉛七水和物	ZnSO ₄	0.12
塩化コバルト(II)六水和物	CoCl ₂	0.15
エチレンジアミン四酢酸	(HOOCCH ₂) ₂ NCH ₂ CH ₂ N(CH ₂ COOH) ₂	10

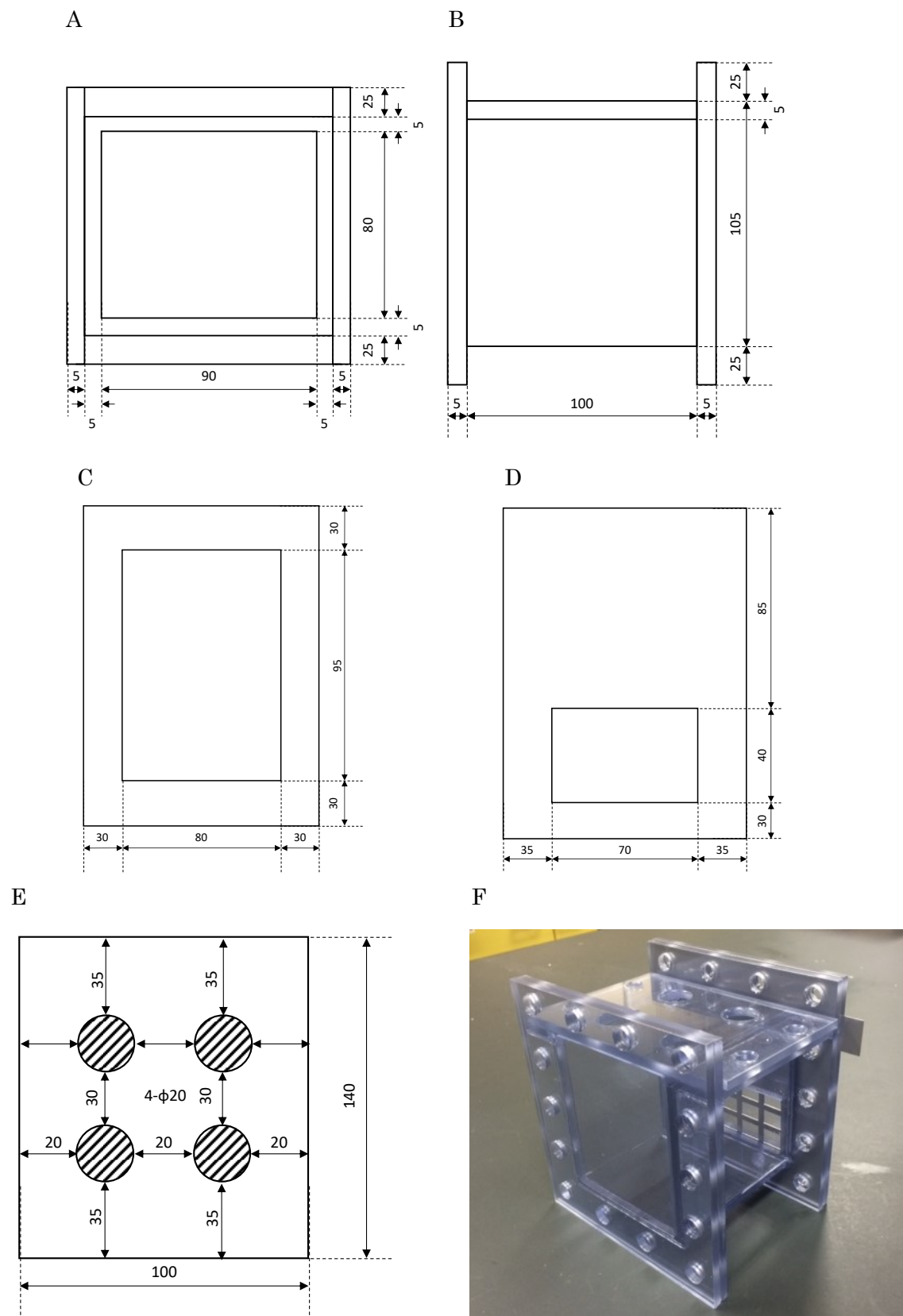


図 3.2.1 角型装置：A 平面図；B 立面図；C 左側側面図；D 右側側面図；E 蓋；F 装置の写真

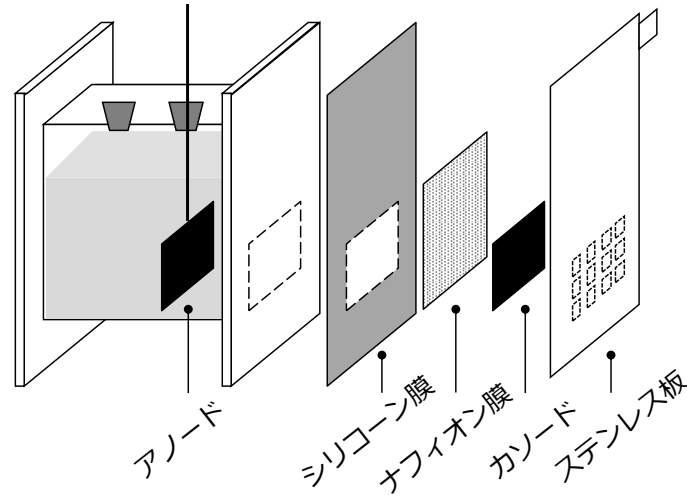


図 3.2.2 MFC の構造図

3.2.3 競合微生物を組み込んだ次元アノード生物膜モデル

(1) モデルの概要

趙（2019）は Marcus ら（2007）の次元モデルを参考に、競合微生物を組み込んだ次元アノード生物膜モデルを Fortran90 で構築した。生物膜で生成した電子がカソード電極に達し、水素イオンと酸素と反応して電流が流れる過程は速やかに起こるものという仮定で構築されている。モデルでは、MFC 装置内をアノード電極、生物膜層、拡散層、液層を次元で表現し（図 3.2.3）、それぞれを微小区間（5 μm ）に分割した。

装置内の有機物は拡散により移動し、生物膜にいる発電微生物に消費される（式 3.2.1）。発電微生物の有機物消費速度は、Monod 式 Nernst 式を組み合わせた式 3.2.2 と式 3.2.3 を用いた。競合微生物の有機物消費速度は式 3.2.4 に示した。微生物量の収支は発電微生物と競合微生物の増殖収率を考慮した増殖量、死滅量及び内生呼吸の自己分解の 3 つの項をそれぞれ式 3.2.5 と式 3.2.6 によって表現した。また、生物膜は微生物が増殖することに伴い成長しながら、一定割合で剥離する。そこで、生物膜の厚さは式 3.2.7 で計算した。生物膜内の微生物密度は既報（Marcus *et al.* 2007）にしたがい、200 mg-VS/cm³ とした。最後に、MFC の電子生産は発電微生物の基質摂取と内生呼吸により電子生産量が計算され、式 3.2.8 で表現した。電流はこの電子生産量から計算した。計算で用いたパラメーターの値は表 3.2.2 に示した。

$$\frac{\partial S}{\partial t} = D \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - q_E X_E \quad (3.2.1)$$

$$k_{bio} \frac{\partial \eta}{\partial x} + j = 0 \quad (3.2.2)$$

第3章 方法

ここで、 S ：酢酸濃度 (mmol-Ac cm^{-3})、 t ：時間 (s)、 x ：アノードからの距離 (cm)、 X_E ：発電微生物密度 (mg-VS cm^{-3})、 k_{bio} ：電気伝導率 (mS cm^{-1})、 η ：局部電位 (V)、 j ：電流密度 (A cm^{-2})

$$q_E = q_{maxE} \frac{S}{S+K_{SE}} \frac{1}{\exp(\frac{F}{RT}(-\eta))+1} X_E \quad (3.2.3)$$

ここで、 S ：酢酸濃度 (mmol-Ac cm^{-3})、 t ：時間 (s)、 x ：アノードからの距離 (cm)、 X_E ：発電微生物密度 (mg-VS cm^{-3})、 k_{bio} ：電気伝導率 (mS cm^{-1})、 η ：局部電位 (V)、 j ：電流密度 (A cm^{-2})、 q_{maxE} ：発電微生物の最大酢酸消費速度 ($\text{mmol-Ac mg-VS}^{-1} \text{ d}^{-1}$)、 K_{SE} ：発電微生物の飽和定数 (mmol-Ac cm^{-3})、 R ：気体定数 ($\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)、 T ：温度 (K) を表す。

$$q_H = q_{maxH} \frac{S}{S+K_{SH}} \quad (3.2.4)$$

ここで、 q_{maxH} ：競合微生物の最大有機物消費速度 ($\text{mmol-Ac mg-VS}^{-1} \text{ d}^{-1}$)、 K_{SH} ：競合微生物の飽和定数 (mmol-Ac cm^{-3}) を表す。

$$\frac{\partial X_E}{\partial t} = (Y_E q_E - b_{inaE} - b_{resE}) X_E \quad (3.2.5)$$

ここで、 Y_E ：発電微生物の増殖収率 ($\text{mg-VS mmol-Ac}^{-1}$)、 b_{inaE} ：死滅速度 ($\text{mg-VS cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$)、 b_{resE} ：自己分解速度 ($\text{mg-VS cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$) を表す。

$$\frac{\partial X_H}{\partial t} = (Y_H q_H - b_{inaH} - b_{resH}) X_H \quad (3.2.6)$$

ここで、 Y_H ：競合微生物の増殖収率 ($\text{mg-VS mmol-Ac}^{-1}$)、 b_{inaH} ：競合微生物の死滅速度 ($\text{mg-VS cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$)、 b_{resH} ：競合微生物の自分分解速度 ($\text{mg-VS cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$) を表す。

$$L_f = L_f + \int \Delta L - b_{det} L_f \quad (3.2.7)$$

ここで、 L_f ：生物膜の厚さ (cm)、 ΔL ：列当たりの増加 L_f (cm)、 b_{det} ：剥離定数 (d^{-1}) である。

$$0 = \frac{\partial j}{\partial x} + \frac{F\gamma_1}{\tau} f_e^0 q_E X_E + \frac{F\gamma_2}{\tau} X_E b_{resE} \quad (3.2.8)$$

ここで、 j ：電流密度 (mA cm^{-2})、 γ_1 ：電子の有機物当量 ($\text{mmol-e}^- \text{ mmol-Ac}^{-1}$)、 γ_2 ：電子の微生物当量 ($\text{mmol-e}^- \text{ mg-VS}^{-1}$)、 τ ：換算係数 (86400 s d^{-1})、 f_e^0 ：電子の発電寄与率である。

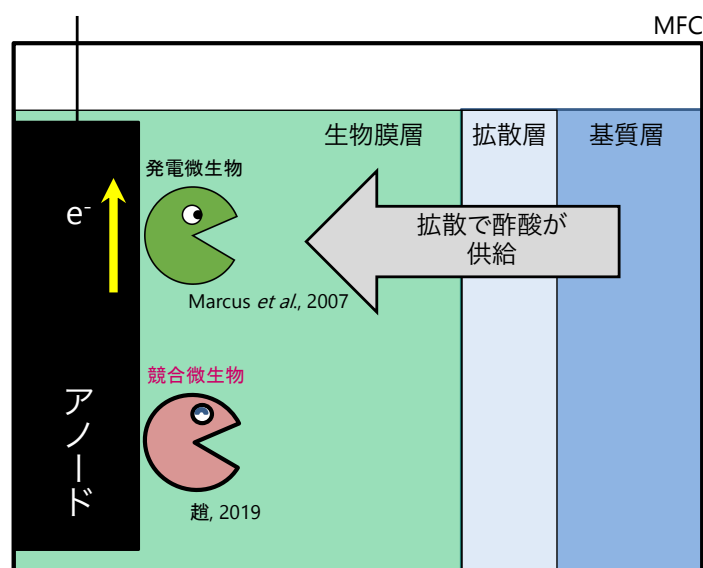


図 3.2.3 競合微生物を組み込んだ一次元アノード生物膜モデル

(2) パラメータの感度解析

モデルの全 12 個のパラメータを 10%増加させ、CE に対する感度解析を行った。各パラメータの感度は既報 (Read *et al.* 2010) にしたがって、式 3.2.9 で評価した。

$$S_{ij} = \left| \frac{\Delta y_i / y_i}{\Delta x_i / x_i} \right| \quad (3.2.9)$$

ここで、 $S_{ij} < 0.25$: 影響なし、 $0.25 \leq S_{ij} < 1$: 影響が弱い、 $1 \leq S_{ij} < 2$: 影響が強い、 $2 \leq S_{ij}$: 影響が非常に強いと判断する。

第3章 方法

表 3.2.2 モデルで使用するパラメーターの値

Symbol	Description	Numerical values	Unit	Reference
L	diffusion layer thickness	0.01	cm	Murcus <i>et al.</i> , 2007
D_1	Acetate diffusion coefficient	0.941	cm ² /d	Murcus <i>et al.</i> , 2007
D_2	Acetate diffusion coefficient in biofilm	0.753	cm ² /d	Murcus <i>et al.</i> , 2007
q_{maxE}	Maximum specific rate of ED utilization for active biomass	0.132	mmol-Ac/mgVS/d	Murcus <i>et al.</i> , 2007
q_{maxH}	Maximum specific rate of ED utilization for competitor biomass	0.113	mmol-Ac/mgVS/d	趙, 2019
K_{SE}	Harf-max-rate acetate concentration	3.0.E-05	mmol/cm ³	Murcus <i>et al.</i> , 2007
K_{SH}	Harf-max-rate acetate concentration	0.0011	mmol/cm ³	Calculated based on Alavijeh <i>et al.</i> , 20015
Y_E	True yields for active biomass	4.52	mgVS/mmol-Ac	Murcus <i>et al.</i> , 2007
Y_H	True yields for competitor biomass	3	mgVS/mmol-Ac	Calculated based on Alavijeh <i>et al.</i> , 20015
b_{inaE}	Inactive decay coefficient for active biomass	0.05	/d	Murcus <i>et al.</i> , 2007
b_{inaH}	Inactive decay coefficient for competitor biomass	0.02	/d	Masih Karimi Alavijeh <i>et al.</i> , 20015
b_{resE}	Endogenous decay coefficient for active biomass	0.05	/d	Murcus <i>et al.</i> , 2007
b_{resH}	Endogenous decay coefficient for competitor biomass	0.07	/d	Masih Karimi Alavijeh <i>et al.</i> , 20015
η	Local potential	0.5	V	Murcus <i>et al.</i> , 2007
X_f	Biomass saturation density	200	mgVS/cm ³	assumed
b_{det}	Detachment rate	0.05	/d	Murcus <i>et al.</i> , 2007
γ_1	Electron equivalence of acetate	8	mmol-e ⁻ /mmol-Ac	Murcus <i>et al.</i> , 2007
γ_2	Electron equivalence of active biomass	0.177	mmol-e ⁻ /mmol-VS	Murcus <i>et al.</i> , 2007
f_e^0	Fraction of electrons from the ED used for energy generation to support synthesis	0.9	dimensionless	Murcus <i>et al.</i> , 2007
κ_{blo}	Conductivity of biomass	1×10 ⁻⁵	mS/cm	Murcus <i>et al.</i> , 2007
τ	Time conversion	86,400	s/d	constant
F	Faraday constant	96,485	C/mol-e ⁻	constant
R	Ideal gas constant	8.3145	J/mol/K	constant
T	Temperature	298.15	K	assumed

3.3 MFC の有機物除去と発電性能の評価

3.3.1 有機物除去性能

MFC の有機物能力を評価するために、流入水や処理水を定刻ごとに採取し、DOC と酢酸 (Ac) 濃度を定量した。

3.3.2 出力性能

(1) 電圧

MFC の電圧はデータロガー (GL220、Graphtec) を用いて、5 分間隔で記録した。記録する電圧の範囲は ± 1.0 V とした。後述する出力—電流密度曲線、電圧—電流密度曲線と CE は電圧のもとに評価した。

(2) 出力—電流曲線と電圧—電流曲線

Logan (2008) の方法を参考にして、装置の電圧が安定した後に $220\text{k}\Omega \sim 47\Omega$ の外部抵抗を用いて出力—電流曲線と電圧—電流曲線を作成した。出力-電流曲線を用いて、装置の最大出力を評価することができる。また、電圧-電流曲線における線形の部分 (傾き) を用いて装置全体の内部抵抗を計算することができる。以下に分極曲線法の手順を示した。

<手順>

- ① 曲線を描く上で、十分に大きな抵抗値であると考えられる外部抵抗 (ここでは $220\text{k}\Omega$ を用いた) を接続した。
- ② 電圧が安定するまで (約 6 分間) 静置し、電圧を記録する。
- ③ 次の外部抵抗を接続し、同じく電圧が安定するまでデータを記録した。
- ④ ②と③を繰り返し、徐々に外部抵抗を小さなものに変え電圧のデータを記録した。
- ⑤ 得られた電圧よりオームの法則を基に電流を求め、アノードの投影面積を用いることで、電流密度、出力密度を算出した (式 3.3.1)。

$$P = \frac{E^2/R_{ext}}{A} \quad (3.3.1)$$

ここで、 P は出力密度 (mW m^{-2})、 E は電圧 (mV)、 R_{ext} は外部抵抗 (Ω)、 A はアノードの面積 (m^2) を表す。

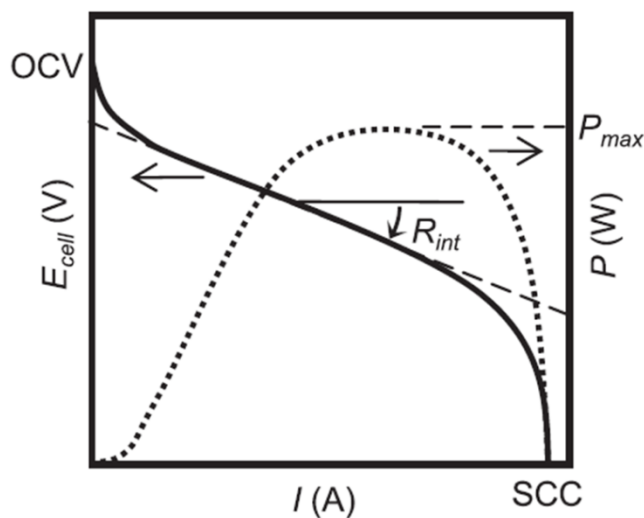


図 3.3.1 出力—電流曲線と電圧—電流曲線 (Watanabe, 2013)

(3) CE

CE は、アノード槽の有機物が全て分解された場合に生じる電子のクーロン量に対して、実際に外部回路に流れた電子のクーロン量の割合を示すパラメータである (Logan, 2006)。つまり、CE は MFC の発電効率を表す。バッチ式の MFC の場合は、その計算式を式 3.3.2 に示す。など、電流の積分は台形公式を用いて算出した。

$$CE = \frac{M \int_0^t I dt}{FbV\Delta COD} \quad (3.3.2)$$

ここで、 $M=32$ (酸素の分子量)、 $b=4$ (酸化還元反応で酸素 1 mol が受け取る電子の量)、 F : ファラデー定数 ($96,485 \text{ C e}^- \text{ mol}^{-1}$)、 V : アノードの有効容積 (L)、 ΔCOD : 有機物除去量 (gCOD L^{-1}) を表す。

LAS を MFC に投入する場合の CE は式 3.3.2 と式 3.3.3 で求めた。

$$\Delta COD = \Delta COD_{Ac} + \Delta COD_{LAS} \quad (3.3.3)$$

ここで、 ΔCOD_{Ac} : 酢酸除去量 (gCOD L^{-1})、 ΔCOD_{LAS} : LAS 除去量 (gCOD L^{-1}) を表す。 ΔCOD_{Ac} 、 ΔCOD_{LAS} は理論的酸素要求量に基づいて、式 3.3.4 と式 3.3.5 によりそれぞれ求めた。

$$\Delta COD_{Ac} = \Delta Ac \times 2.67 \quad (3.3.4)$$

ここで、 ΔAc : 酢酸除去量 (gC L^{-1})、2.67 は酢酸の COD 換算係数 ($\text{gCOD g}^{-1}\text{C}$) である。

$$\Delta COD_{LAS} = \Delta C_{10} \times 2.18 + \Delta C_{11} \times 2.23 + \Delta C_{12} \times 2.28 + \Delta C_{13} \times 2.32 \quad (3.3.5)$$

第3章 方法

ここで、 $\Delta C_{10} \sim \Delta C_{13}$: 各 LAS 同族体の除去量 (gC L^{-1})、2.18、2.23、2.28、2.32 はそれぞれ $C_{10} \sim C_{13}$ の COD 換算係数 ($\text{g COD g}^{-1}\text{LAS}$) である。

LAS は流入直後にすみやかに付着生物膜やアノード等に吸着する可能性がある。この場合、 ΔCOD_{LAS} は概念的に式 3.3.6 と式 3.3.7 で示される。

$$\Delta COD_{LAS} = \Delta COD_{LAS, Bio} + \Delta COD_{LAS, Abs} \quad (3.3.6)$$

$$\Delta COD_{LAS, Abs} = \Delta COD_{LAS, Abs-1} + \Delta COD_{LAS, Abs-2} \quad (3.3.7)$$

ここで、 $\Delta COD_{LAS, Bio}$: 非吸着 LAS の微生物分解量 (gCOD L^{-1})、 $\Delta COD_{LAS, Abs}$: LAS の吸着除去量 (gCOD L^{-1})、 $\Delta COD_{LAS, Abs-1}$: 吸着 LAS の微生物分解量 (gCOD L^{-1})、 $\Delta COD_{LAS, Abs-2}$: 吸着 LAS の未分解量 (g COD L^{-1}) である。

本論文では、LAS の微生物分解量に基づいて CE を評価した。 ΔCOD_{LAS-1} 、 ΔCOD_{LAS-2} を式 3.3.8 と式 3.3.9 により算出し、それぞれを式 3.3.1 の ΔCOD_{LAS} に代入し、 ΔCOD を求めた。そして、式 3.3.2 を用いて吸着した LAS がすべて分解されたと仮定した CE-1、吸着した LAS が一切分解されないと仮定した CE-2 を求めた。そこで、微生物分解量に基づく CE は、CE-1 と CE-2 の間にあると考えた。

$$\Delta COD_{LAS-1} = \Delta COD_{LAS, Bio} + \Delta COD_{LAS, Abs} \quad (3.3.8)$$

$$\Delta COD_{LAS-2} = \Delta COD_{LAS, Bio} \quad (3.3.9)$$

3.3.3 MFC の発電に対する陰イオン界面活性剤の影響評価

流入水の有機物組成を変えた 3 つのバッチ試験を 1 回ずつ行った(表 3.3.1)。Run1 では、酢酸 100 mgC L^{-1} を流入した。Run2 では、酢酸 100 mgC L^{-1} と 30 mgC L^{-1} の LAS を流入し、LAS が MFC の酢酸除去と発電に及ぼす影響を調べた。Run3 では、 100 mgC L^{-1} の LAS のみを MFC に流入し、LAS の分解や電子供与体としての寄与を調べた。有機物以外の組成は 3.2 で述べた流入水と同様に、リン酸緩衝液 50mM 、微量金属 0.5mL とした。

MFC の 1 サイクルにおける LAS の減少率 η は式 3.3.10 により求めた。

$$\eta = \left(1 - \frac{C_{Effluent}}{C_{Influent}}\right) \times 100 \quad (\%) \quad (3.3.10)$$

ここで、 $C_{Influent}$: 流入水中の LAS 濃度、 $C_{Effluent}$: 処理水中の LAS 濃度である。

表 3.3.1 流入水の組成

Run	酢酸 (mg-C/L)	LAS (mg-C/L)
1	100	-
2	100	30
3	-	100

3.4 活性汚泥の総抗酸化力の評価

3.4.1 対象とした下水処理場の概要

本論文の第4章と第5章で用いた硝化細菌とMFCsの接種源となる都市下水処理場の概要は表3.4.1に示した。また、処理場の平面図を図3.4.1に示した。最初沈殿池の越流水は、6レーンからなる反応槽に概ね均等的に配分される。また、各レーンは6槽に分かれている。いずれも、最初の2槽は嫌気槽（A1、A2）、その後の4槽は好気槽（O1~O4）となっている。接種源となる活性汚泥は嫌気槽の2槽目から採取した。

第6章の検討において、後述する都市下水処理場における標準活性汚泥の総抗酸化力の動態を把握するために、活性汚泥をA1~O4の6槽から、2018年1月12日、2月8日と6月28日に各槽の末端で行った。

表 3.4.1 池の川都市下水処理場の概要

排水面積	2204.98 ha
計画排水人口	74500 人
排除方法	分流式
処理手法	標準活性汚泥法
処理方式能力(実績)	最大 84000m ³ /日
計画流入水質	BOD 188 ppm

第3章 方法

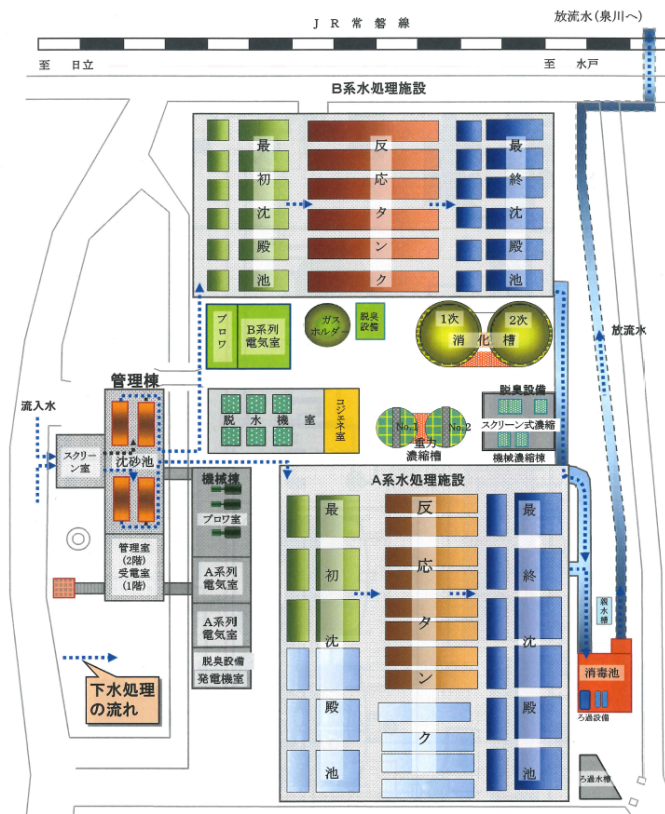


図 3.4.1 池の川下水処理場の施設概略図（日立上下水道部、2012）

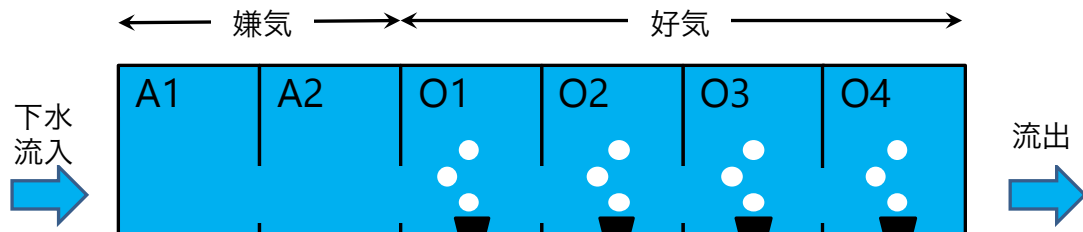


図 3.4.2 池の川下水処理場の反応槽

3.4.2 活性汚泥の ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) の評価手法

(1) 細胞内溶解性タンパク質の抽出と分析

活性汚泥細胞内の抗酸化成分(酵素・物質)は溶解性タンパク質である(Regoli, 2000)。一方、EPS にも溶解性タンパク質が存在する。細胞内の溶解性タンパク質を抽出するために、本研究では陽イオン交換樹脂法(Frølund *et al.* 1996)で EPS を抽出し、目開き 500 μ m のふるいで活性汚泥のみを回収した。その後、ホモジナイザー(7500 rpm、3 min、OMNI International、GLH)で分散処理し、遠心分離(12000 g、4 °C、15min、KOKUSAN、H-1500R α)で回収した上澄み液を試料とした。また、ローリー法(Liang *et al.* 2010)を用いて溶解性タンパク質の分析を行った。その手順を以下に示す。

第3章 方法

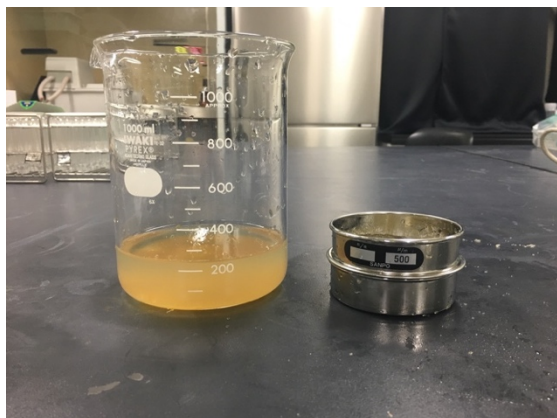
<手順>

- ① 活性汚泥混合液（約 1 gVSS L⁻¹）を遠心分離管に秤取る。
- ② 3500rpm（2100g、H-28F、KOKUSAN）で 5 分間遠心分離し、上澄みを静かに捨てる。
- ③ 遠心沈殿管に PBS（Frølund *et al.* 1996）を加え、活性汚泥ペレットと混合する。
- ④ 再度、3500 rpm で 5 分間遠心分離し、上澄みを捨てる。
- ⑤ 活性汚泥ペレットを陽イオン交換樹脂（Dowex 50×8、Na⁺ form、20–50 mesh）と 1 g : 70 g で混合し、約 30 mL の PBS を添加する。
- ⑥ ⑤で得られた混合液を 600 rpm で 1 時間攪拌する。温度を 4 °C とする（図 3. 4. 3）。
- ⑦ ⑥で得られた混合液を 12000 g（KOKUSAN、H-1500Ra）で 15 分間遠心分離する。温度を 4 °C とする。
- ⑧ ⑦で得られた上澄み液に EPS が含まれるもの（Frølund *et al.* 1996）として、タンパク分析と ORAC 分析に供える。
- ⑨ 同じく⑦で得られた活性汚泥と陽イオン交換樹脂の混合物に約 20 mL の PBS を添加し、ホモジナイザー（2500 rpm、20 s、OMNI International、GLH）で分散処理して、目開き 500 μm のふるいで活性汚泥混合液を回収する（陽イオン交換樹脂を取り除く）。（図 3. 4. 4）
- ⑩ ⑨で得られた活性汚泥混合液をホモジナイザー（7500 rpm、3 min、OMNI International、GLH）で分散処理する。この作業は氷水で行う。
- ⑪ ⑩で得られた活性汚泥混合液 12000 g（KOKUSAN、H-1500Ra）で 15 分間遠心分離する。温度を 4 °C とする。その上澄み液に活性汚泥の細胞内タンパクが含まれるものとして、タンパク分析と ORAC 分析に供える。



図 3. 4. 3 EPS の抽出

A



B



図 3.4.4 ふるいによる活性汚泥と陽イオン交換樹脂の分離：A 回収した活性汚泥；B 分離された陽イオン交換樹脂

(2) ORAC 分析

ORAC 法はラジカル開始剤によって分解されるフルオレセイン(蛍光プローブ)の蛍光強度を経時的に測定し、総抗酸化力を定量する方法である(Cao *et al.* 1997)。上述した方法で回収した試料 30 μL にラジカル開始剤である AAPH (2, 2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride, 50 mM) 60 μL とフルオレセイン 150 μL (125.2 nM) を添加し、37°C で 2 分間おきに 2 時間にわたり蛍光強度を測定した。なお、蛍光分析はマイクロプレートリーダー (infinite F200PRO、TECAN)を用いて、励起波長 485 nm、測定波長 528 nm で測定した。そして、既報(Regoli, 2000)に従い、試料の蛍光強度の曲線下面積とブランクの曲線下面積の差(図 3.4.5)を Trolox 当量に換算し、それを溶解性タンパク質量で除したものを ORAC とした(式 3.4.1)。なお、試薬の準備と分析の手順を以下に示す。

<試薬>

- Trolox (350 μM) : 1 L メスフラスコに Trolox 0.0219 g を少量の PBS で溶解させ、メスアップする。この保存用濃縮液を、分析時に PBS で 20 倍希釈して使用する。
- フルオレセイン (40 μM) : 1 L メスフラスコに約 500 mL の Milli-Q を入れ、水酸化ナトリウムを 0.1 g 程度溶かす。次いでフルオレセイン 0.0133 g を加え、Milli-Q でメスアップする。この保存用濃縮液を、分析時に PBS で 250 倍希釈して使用する。
- AAPH (50 mM) : 100 mL メスフラスコに AAPH 1.3556 g を溶かし入れ、PBS でメスアップする。この溶液は分析毎に調整する。

<手順>

- ① 各試薬の調整を行う。
- ② マイクロプレートリーダーのインジェクターを Milli-Q で洗浄する。
- ③ フルオレセイン、AAPH をプライムする。
- ④ マイクロプレートに Blank、Trolox、サンプルを 30 μL 添加し、セットする。

第3章 方法

- ⑤ マイクロプレートリーダーにてスケジュールを決定し、分析を行う。
- ⑥ 分析終了後、インジェクターの洗浄を Milli-Q 及び注入薬品に対応する低級アルコールにて行う。

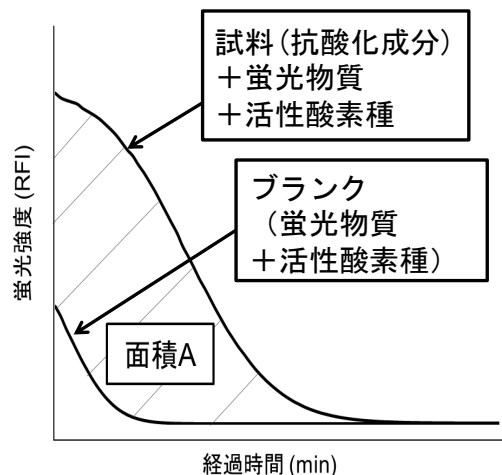


図 3.4.5 ORAC の測定例

$$ORAC (\mu\text{mol TE } \text{mg}^{-1}\text{Protein}) = \frac{\text{面積 A} \times \text{標準物質の換算係数} \times \text{希釈倍率}}{\text{溶解性タンパク量}} \quad (3.4.1)$$

3.4.3 嫌気—好気条件における有機物濃度と活性汚泥の ORAC の関係

都市下水処理場の好気槽 (O4) 末端から活性汚泥を採取し、遠心分離して上澄み液を引き抜いた。その後、N₂ ガスで脱気した BOD 試験水 (日本下水道協会、1997) で活性汚泥ペレットと混合し、密閉したガラス容器に移した。容器内の酢酸濃度が 60 mgC L⁻¹ になるように酢酸を添加し、攪拌しながらバッチ試験を始めた (図 3.4.6)。実験は嫌気 1 時間、好気 1 時間とした。ORAC 分析用の活性汚泥の採取 (n=5) は 0.5 時間ごとに行った。また、0.5 時間ごとに、MLSS・MLVSS と酢酸分析用のサンプリングを行った。実験中の水温を 20°C になるように定温水槽で行った。



図 3.4.6 嫌気—好気条件における有機物濃度と活性汚泥の ORAC 挙動のバッチ試験

3.5 水質などの分析

3.5.1 溶存態有機炭素 (DOC)

本論文では、水サンプルを $0.3\ \mu\text{m}$ の粒子保持率を有するガラス繊維 (GF-75、アドバンテック) を用いて濾過し、TOC 計 (TOC-VCSH、SHIMADZU) を用いて DOC 分析を行った。

3.5.2 酢酸 (Ac)

Ac 濃度は Shimadzu 社の高速液体クロマトグラフィーを用いて分析した (表 3.5.1)。分析の条件は表 3.5.2 に示した。

表 3.5.1 酢酸分析に使用した高速液体クロマトグラフィーの概要

分析機器	メーカー	機種・種類
HPLC	Shimadzu	CBM-20A
Pump A	Shimadzu	LC-20AT
Pump B	Shimadzu	LC-20AT
検出器	Shimadzu	CDD-10Avp
オートサンプラー	Shimadzu	SIL-20AC
オープン	Shimadzu	CTO-20A
カラム	Shimadzu	Shim-pack

第3章 方法

表 3.5.2 酢酸分析の条件

分析時間	17min
Flow	0.8mL/min
temp	45°C
Injection	20μL
溶離液	p-トルエンスルホン酸水溶液 5mol/L
検出液	p-トルエンスルホン酸水溶液 5mol/L EDTA 100μmol/L Bis-Tris水溶液 20mmol/L

3.5.3 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩 (LAS)

LAS はアルキル基の炭素数が 10 から 14 ($C_{10} \sim C_{14}$) の同族体がある。LAS の分析には、蛍光検出器 (RF-10A XL、Shimadzu) 付き高速液体クロマトグラフィー (HPLC) (Prominence、Shimadzu) を用いた。カラムとして Wakopak Wakosil AS-Aqua (Wako)、標準液として LAS 標準原液 (関東化学) をそれぞれ用いて、 $C_{10} \sim C_{14}$ の LAS 同族体を同定・定量した (Tsuji *et al.* 2009)。分析の条件を表 3.5.3、分析で用いた分析機器を表 3.5.4 に示す。また、実験で用いた LAS (Wako) を事前に分析したところ、 $C_{10} \sim C_{13}$ の含有率はそれぞれ 11.0%、34.7%、32.3%、22.0%であった。 C_{14} は検出されなかったことから、ここでは LAS 濃度を $C_{10} \sim C_{13}$ の合計濃度とした。

表 3.5.3 LAS 分析に使用した高速液体クロマトグラフィーの概要

分析機器	メーカー	機種・種類
HPLC	Shimadzu	CBM-20A
Pump	Shimadzu	LC-20AT
検出器	Shimadzu	RF-10XL
オートサンプラー	Shimadzu	SIL-20AC
オープン	Shimadzu	CTO-20A
カラム	Shimadzu	Wakopak Wakosil AS-Aqua

表 3.5.4 LAS 分析の条件

分析時間	12 min
Flow	0.7 mL/min
Column temp	40 °C
Injection	10 μm
溶離液	0.1 mol/L 過塩素酸ナトリウムアセトニトリル 水混合液 (65:35、 V/V)

3.5.4 アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素

NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、および NO_3^--N の濃度は、それぞれインドフェノール吸光光度法、ナフチルエチレンジアミン吸光光度法、およびブルシン法によって定量した (APHA. 1998)。

3.5.5 MLSS・MLVSS

MLSS・MLVSS の分析は、下水試験法 (1997) に従った。

3.5.6 統計解析

ORAC の値は、測定した 5 サンプルの平均値±標準偏差で表示した。Tukey 法により、各サンプルの ORAC 値の有意差を検定した。異なるアルファベットは有意差 ($p<0.05$) があったことを意味する。この検定は統計ソフト R で行なった。

第4章

気体透過膜を導入した二槽式MFCによる 有機物・窒素の同時除去と発電

第4章 気体透過膜を導入した二槽式MFCによる 有機物・窒素の同時除去と発電

- 4.1 気体透過膜の受動的酸素供給を利用した
二槽式微生物燃料電池の考案
- 4.2 気体透過膜の受動的酸素供給性能とそれ
による硝化性能
- 4.3 MFCによるコークス炉模擬排水の有機物
除去と発電性能
- 4.4 シリコン膜を導入した二槽式MFCによ
る有機物・窒素の同時除去と発電性能

排水に含まれる有機物・窒素の同時除去のために、気体透過膜を導入した二槽式MFCを考案した。4.1では、考案したプロセスとコークス炉模擬排水を対象とした目的を述べた。気体透過膜を導入したMFCの構築に先立ち、4.2では、酸素透過性能の高いシリコン膜に着目し、総括酸素移動容量係数を用いてその受動的酸素供給性能を評価した。また、シリコン膜に硝化細菌を付着させ、受動的酸素供給で得られる硝化速度を明らかにした。4.3では、酸素を電子受容体としたエアカソード型MFCと、硝酸態窒素を電子受容体とした二槽式MFCを用いて、コークス炉模擬排水の有機物除去と発電性能を明らかにした。最後に4.4では、シリコン膜を導入した二槽式MFCを構築し、その有機物・窒素の同時除去と発電性能を調べた。

=====

4.1 気体透過膜の受動的酸素供給を利用した二槽式微生物燃料電池

の考案

本研究で考案した気体透過膜を導入した二槽式MFCの概念図を図4.1.1に示した。アノード槽で排水中の有機物（電子供与体）を処理し、その後、カソード槽に供給する。カソード槽では、気体透過膜を通して受動的な酸素供給を行うことによりエネルギーフリーで硝化反応を行い、生成した硝酸イオンをカソードの電子受容体として利用することで発電を可能にするプロセスである。考案した二槽式MFCでは、アノード槽、カソード槽の逐次反応により排水中の有機物・窒素が処理されるため、両者の反応速度がある程度揃っていた方が検討しやすい。ここでは、生物分解に時間を要する有機物（主にフェノール）を含むコークス炉排水を対象とした。

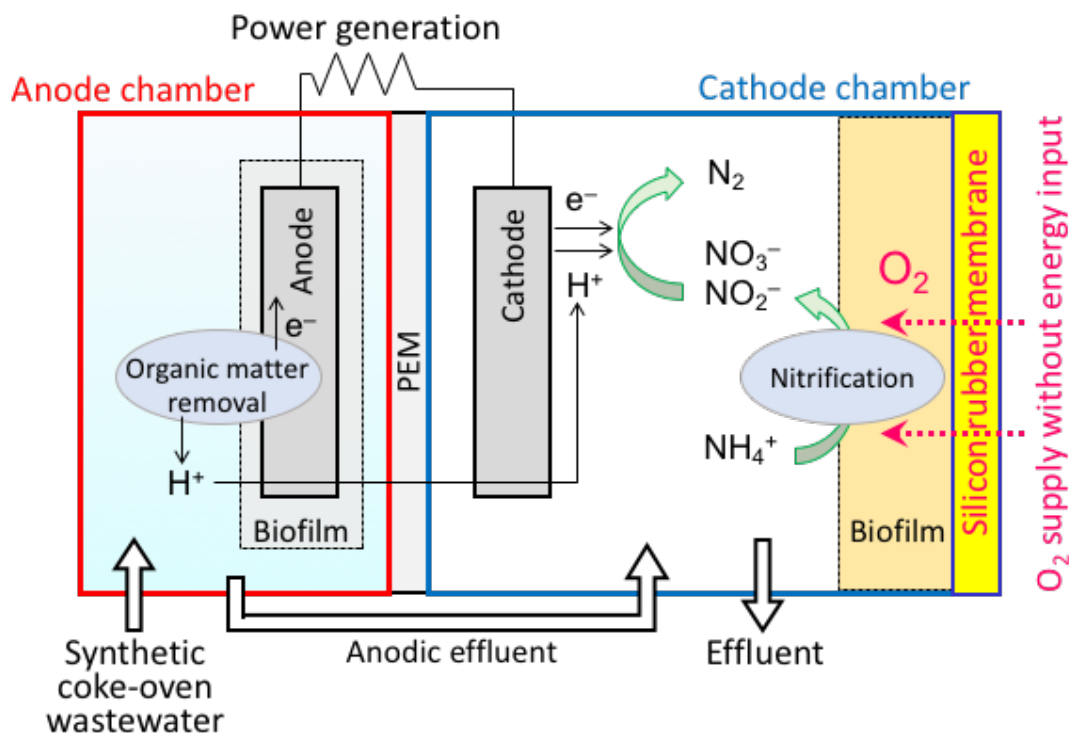


図 4.1.1 気体透過膜を導入した二槽式微生物燃料電池の概念図

4.2 気体透過膜の酸素供給性能

4.2.1 総括酸素移動容量係数を用いた酸素供給性能の評価

シリコン膜 A を用いたときの SRM 装置内 DO 濃度の経時変化を図 4.2.1 に示した。実験開始してから 12 時間後に装置内の DO が $4.8 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ まで上昇したが、対照系 (control) は実験期間中で約 $0.2 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ しか上昇しなかった。この結果により、SRM は十分に密封されており、酸素がシリコン膜のみを介して供給されたことが示された。

シリコン膜 A、B および C を用いて同様の実験を行い ($n=3$)、 K_{La} はそれぞれ 1.8、1.4 および 1.1 d^{-1} と算出された。一方、対照系の K_{La} は 0.1 d^{-1} と算出され (図 4.2.2)、シリコン膜 A、B および C との間に有意差が見られた ($p<0.01$)。シリコン膜の硬度はシリカの含有量の増加とともに増加するが、酸素透過性能は減少することが一般的に知られている。したがって、最も低い硬度を有するシリコン膜 A が最も高い K_{La} を示した。また、シリコン膜 A に十分に硝化細菌が付着したとき、理論的に算出される硝化速度は $3.0 \text{ mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ および $472 \text{ mgN m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ と見積もられた。これ以後の実験では、最も酸素供給性能が高かった膜 A を用いた。

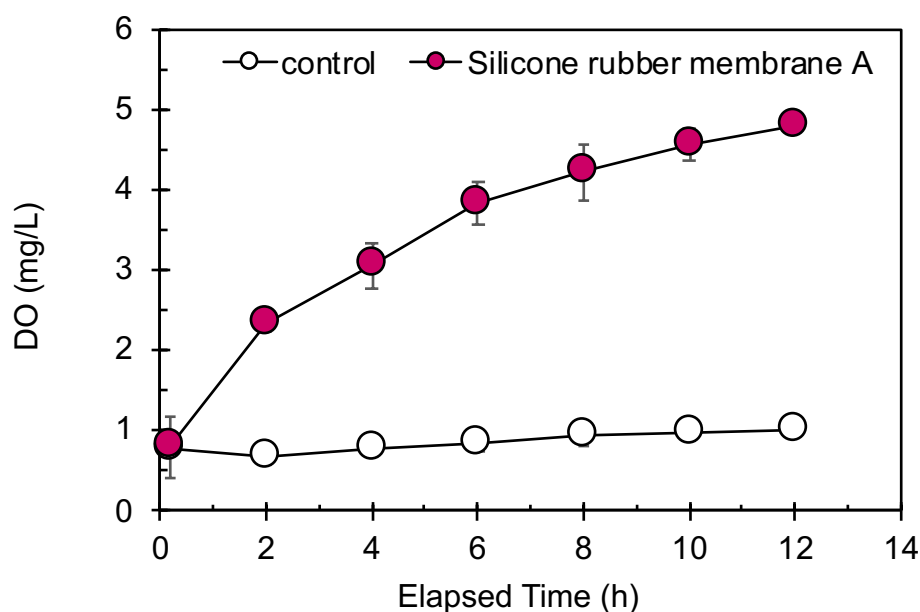


図 4.2.1 実験装置内の DO の経時変化

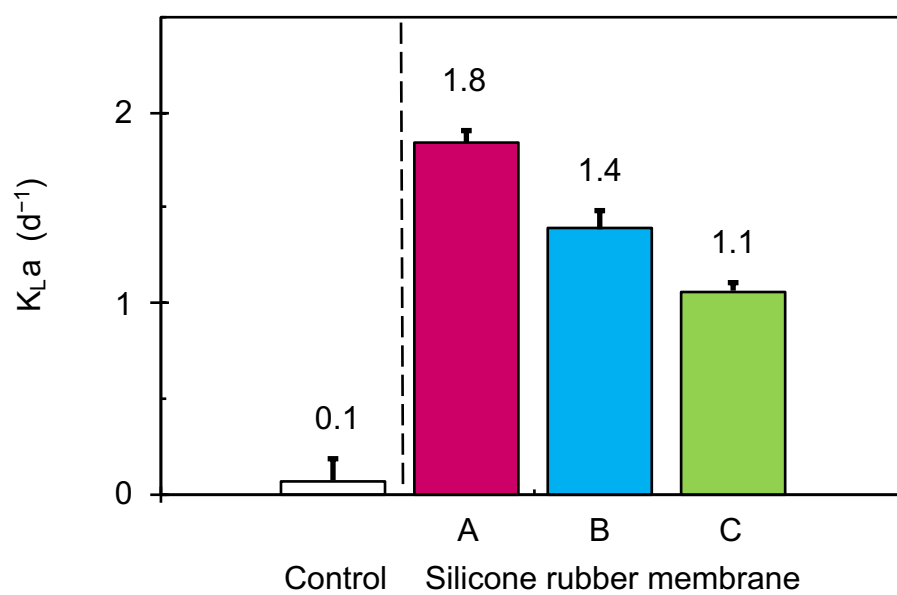


図 4.2.2 各種シリコン膜の総括酸素移動容量係数 (K_La)

4.2.2 シリコーン膜に付着した生物膜の硝化性能

硝化細菌が付着した SRM-biofilm 装置の 1 サイクルの運転 (81~92 日) における槽内の窒素濃度を図 4.2.3 に示した。 NO_3^- -N と NO_2^- -N の増加および NH_4^+ -N の減少が確認され、付着した生物膜により硝化反応が起こっていることが示された。その硝化速度は $52.5 \text{ mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ と算出され、理論的な硝化速度 $3.0 \text{ mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ より約 18 倍も高かった。つまり、生物膜の存在により受動的な酸素供給は約 18 倍も改善された。生物膜はシリコーン膜から受動的に供給された酸素を消費するため、シリコーン膜を介した酸素の濃度勾配が大きく保たれたことにより、より多くの酸素が槽内に供給されたことが考えられた。その結果、実際の硝化速度は理論的な硝化速度と比較して大きくに改善されたことが考えられた。シリコーン膜チューブに空気を送り込みながら、硝化細菌生物膜を付着させた場合の酸素供給速度を評価した鈴木ら (1991) の研究で同様の結果が報告されている。

硝化試験の結果を図 4.2.4 に示した。槽内を曝気した場合の硝化速度は $153 \text{ mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ であった。これに対して、外部エネルギーの投入がなく、シリコーン膜を用いた受動的な酸素供給方法では、流入 NH_4^+ -N の濃度が 600 mgN L^{-1} のときの硝化速度 ($52.5 \text{ mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) は曝気時の約 34% を占めた。また、硝化細菌生物膜の NH_4^+ -N に対する飽和定数は 1.0 mgN L^{-1} である (Henze *et al.* 2000) が、硝化試験では流入 NH_4^+ -N の濃度が高くなるにともない、硝化速度が高くなることが確認された。 NH_4^+ -N の濃度が高いほど、より多くの酸素がシリコーン膜を介して受動的に供給された可能性が考えられた。そこで、流入 NH_4^+ -N の濃度が 20、40 と 600 mgN L^{-1} ときの DO 濃度を、式 3.1.6 を用いて試算した。硝化細菌の濃度 (X) は $36.8 \text{ mg COD L}^{-1}$ と推定され、20、40 と 600 mgN L^{-1} ときの S_{NH_4} ($K_{\text{NH}_4} + S_{\text{NH}_4}$) $^{-1}$ はそれぞれ、0.952、0.976 と 0.998 と推定された。これらの値を用いて、20、40 と 600 mgN L^{-1} ときの S_{O_2} はそれぞれ、0.046、0.092 と $0.261 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ と算出された。この試算は、付着した硝化細菌生物膜の存在により、シリコーン膜を介した酸素の濃度勾配が大きく保たれたという前述した考察を裏付けた。

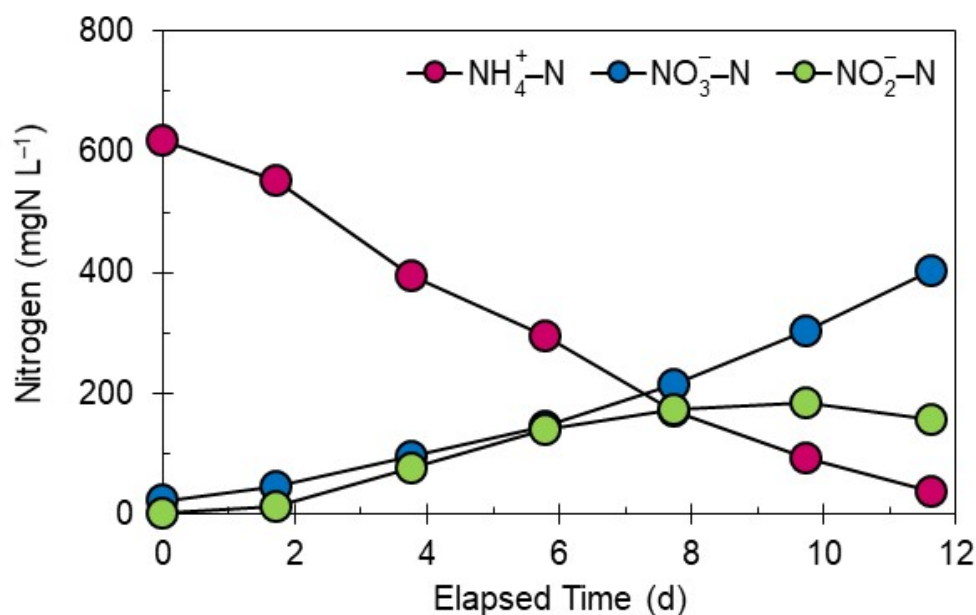


図 4.2.3 SRM-B 装置内の窒素濃度の経時変化 (81~92)

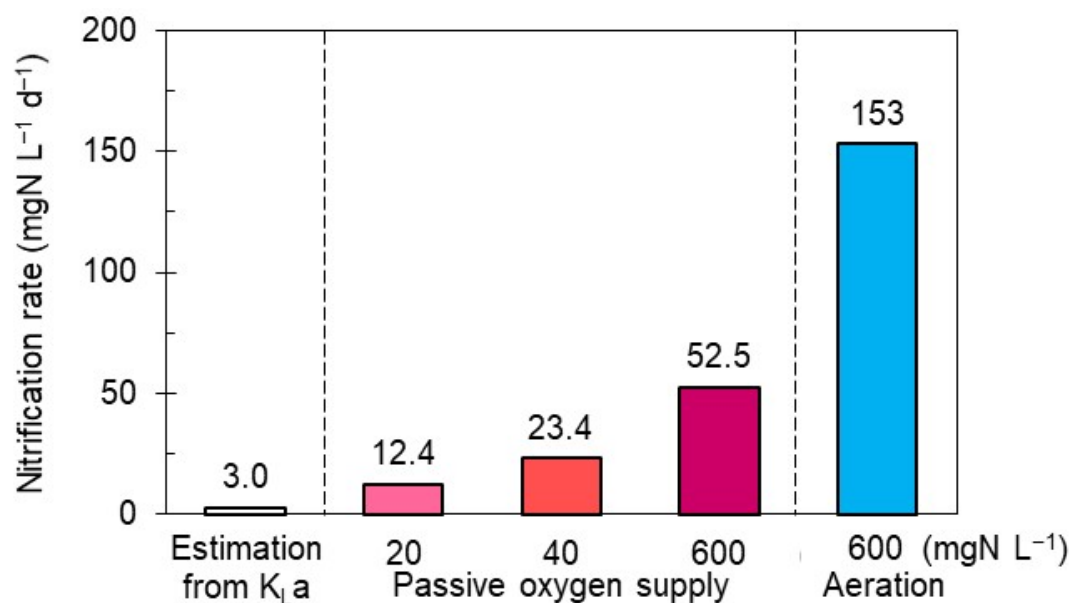


図 4.2.4 流入 NH₄⁺-N の濃度と硝化速度の関係

4.2.3 シリコン膜の酸素供給による亜硝酸態窒素の蓄積

図 4.2.5 に SRM-B の運転期間における NO₂⁻-N 蓄積率と NH₄⁺-N 残存率を示した。62 日目までのサイクルでは、排水を交換してから 6~7 日後に約 0.2 の最大の NO₂⁻-N 蓄積率が確認された。一方、NO₂⁻-N 蓄積率は運転 62 日以後に次第に増加し、最大で約 1.0 (118 日目) に達した。しかし、NH₄⁺-N 残存率が小さくなることにしたが、NO₂⁻-N 蓄積率は低下した。

担体に生物膜が形成される場合、アンモニア酸化細菌 (AOB) は球形クラスターを形成

し、そしてせん断力により、ほとんどのAOBは生物膜の表面より深層部に存在すると報告されている(岡部ら、1999)。気体透過膜に付着した生物膜では、基質と酸素がそれぞれ逆方向から供給されるため、好気性微生物と嫌気性微生物がそれぞれ生物膜の底面と表面に存在する(Semmens *et al.* 2003)。本研究では、前述した事前に集積した硝化汚泥を植種したため、形成した生物膜に存在する微生物の多くは硝化細菌であると考えられる。さらに、生物膜は62日間にわたり馴致を行った。以上のことを踏まえると、AOBクラスターが比較的隙間が大きい構造であるため(岡部ら、1999)、生物膜の深層にでも基質が十分に供給されると考えられ。つまり、シリコン膜に付着したAOBは、基質と酸素の両方を摂取することができる。したがって、AOBは亜硝酸酸化細菌より、受動的に供給された酸素を利用できるようになっていることから、槽内に NO_2^- -Nの蓄積が生じたことが考えられた。

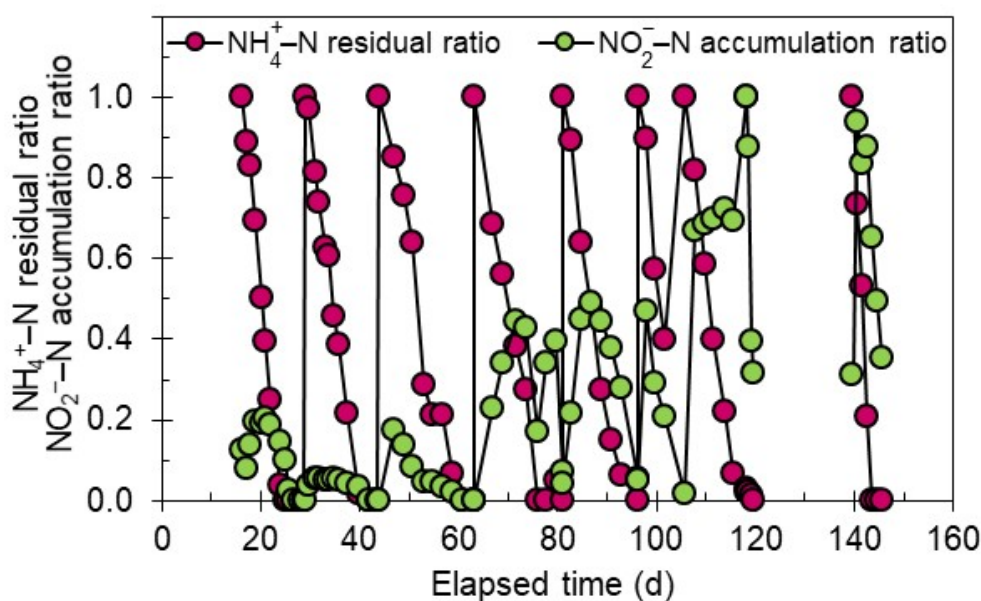


図 4.2.5 NH_4^+ -N 残存率と NO_2^- -N 蓄積率の推移

4.3 MFC によるコークス炉模擬排水の有機物除去と発電性能

4.3.1 MFC の有機物除去

エアカソード型 MFC を 125 日間にわたり運転した。流入水の DOC は $450 \sim 500 \text{ mgC L}^{-1}$ であったが、1 サイクルの運転後に約 30 mgC L^{-1} まで減少した(図 4.3.1)。DOC の除去効率は 90%以上達していた。排水中の塩分濃度が 10 g L^{-1} を超えると、メタン発酵が強く抑制されると報告されている(Kugelman&McCarty、1965; Lefebvre&Moletta、2006)。MFC に関しては、NaCl を 10 g L^{-1} まで添加しても、酢酸を基質として運転した MFC の有機物除去と発電性能に影響を及ぼさないと報告されている(Lefebvre *et al.* 2012)。本研究では、流入水には 68% (v v^{-1}) の海水を含めていた。また、海水の塩濃度は約 3.5% (w v^{-1}) であるため、流入水の塩分濃度は 23.8 g L^{-1} と推定される。この程度の塩分濃度は海水が含まれた模擬コークス炉廃水を処理する MFC の有機物除去を阻害しないことが示唆された。

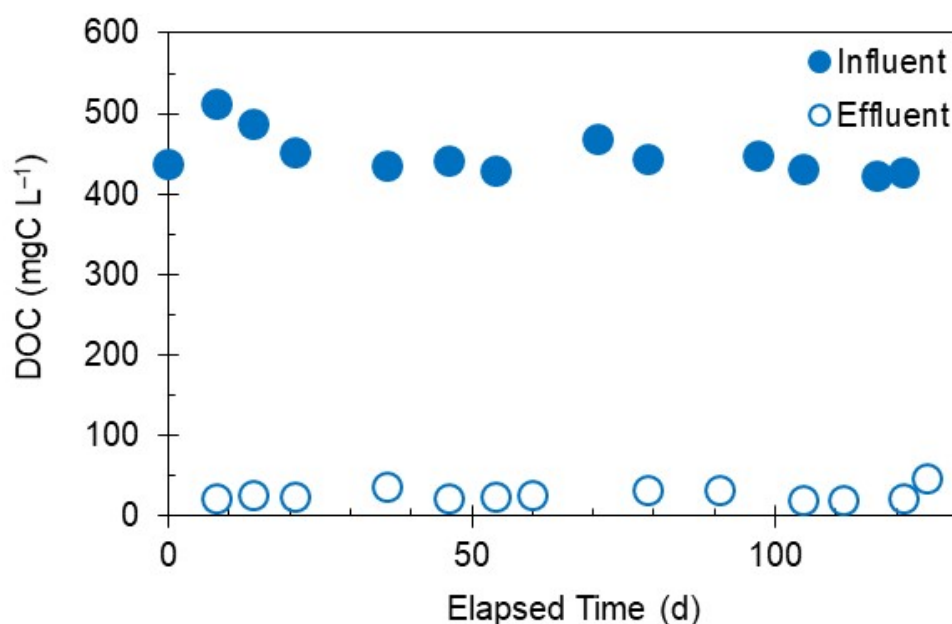


図 4.3.1 エアカソード型 MFC の流入水と排水の DOC

4.3.2 MFC の発電性能

二槽式 MFC (Two-chamber MFC) の 1 サイクル目における電圧と DOC を図 4.3.2 (A) に示した。DOC が減少につれ、最大で 0.36 V の電圧が得られた。この結果は、流入水中のフェノールが MFC により除去され、そして電気に変換されたことが示された。

19 日目 (2 サイクルの 4 日目) に得られた出力密度曲線と分極曲線を図 4.3.2 (B) に示した。MFC の最大出力密度は 62 mW m^{-2} に達しており、内部抵抗は 258Ω と計算された。フェノールが生分解しにくい (Song *et al.* 2014)、本 MFC の最大出力密度はグルコースを基質とした Nafion-MFC の 262 mW m^{-2} (Liu & Logan, 2004) と酢酸を基質とした Nafion-MFC の 328 mW m^{-2} (Liu *et al.* 2005) と比べ、はるかに低かった。しかしながら、本 MFC の最大出力密度は、既報のフェノールを処理する MFC より高かった。Luo ら (2009) は 400 mg L^{-1} のフェノールを処理する二槽式 MFC を用いて 6 mW m^{-2} の最大出力密度を得た。Song ら (2014) 600 mg L^{-1} のフェノールを基質として運転した二槽式 MFC から 16.5 mW m^{-2} の最大出力密度と 898Ω の内部抵抗を得られている。また、Buitrón ら (2014) は 1000 mg L^{-1} のフェノールをエアカソード型 MFC に投入し、 49.8 mW m^{-2} の最大出力密度と 460Ω の内部抵抗を報告している。MFC の発電は内部抵抗により影響されることがよく知られている (Logan *et al.* 2006; Ter Heijne *et al.* 2006)。流入水の塩分濃度の増加にともない、アノード槽の電気伝導度 (EC) が増加し、内部抵抗が小さくなること報告されている (Lefebvre *et al.* 2012; Li *et al.* 2013; Liu *et al.* 2005)。本研究では、MFC のアノード槽に 68% (v/v) の海水が含まれていた。その結果、MFC 出力密度が向上されたことが考えられた。

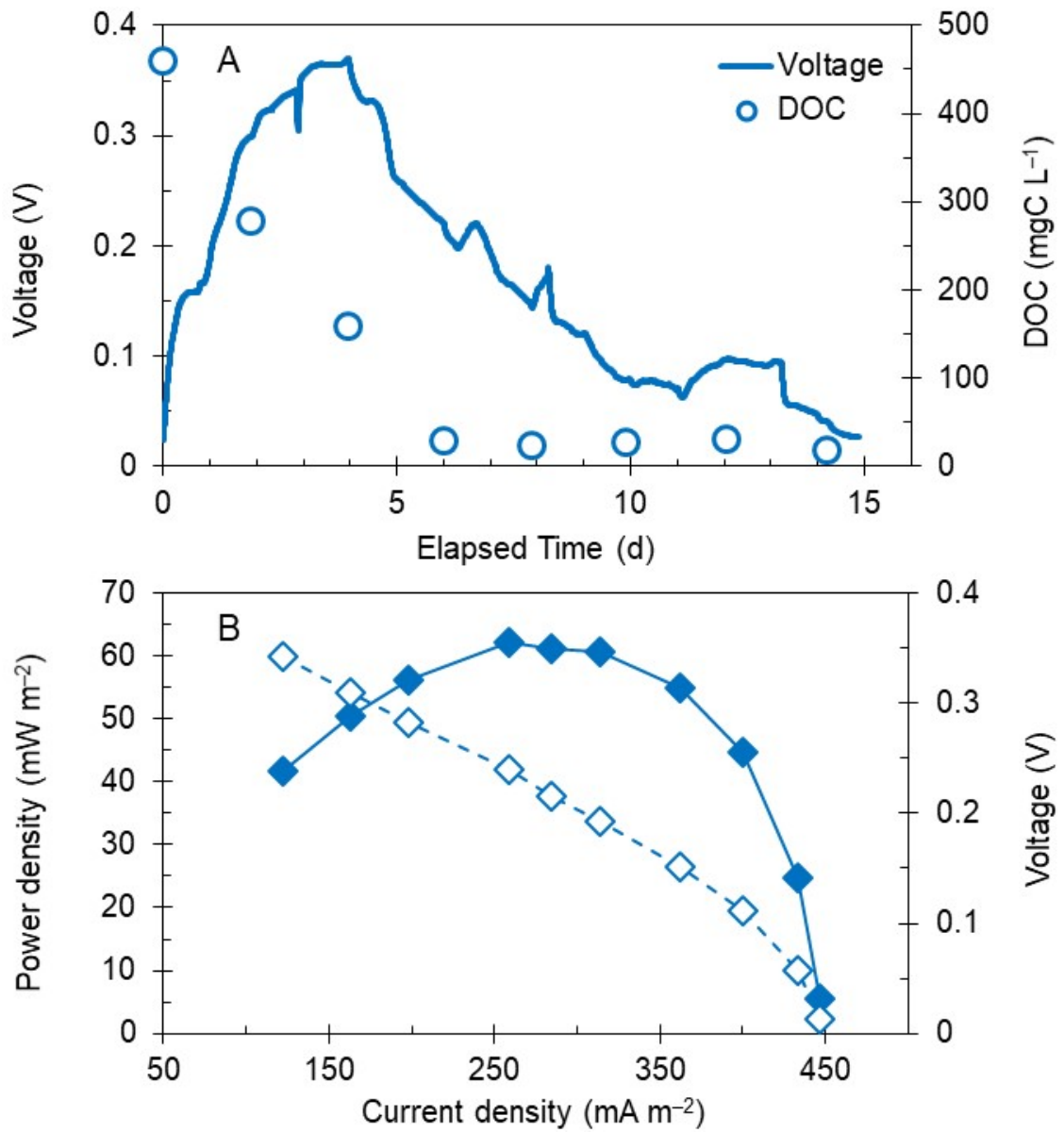


図 4.3.2 二槽式 MFC 有機物除去と発電性能：
(A) 電圧と DOC 除去；(B) 出力密度曲線と分極曲線

4.4 シリコン膜を導入した二槽式MFCによる有機物・窒素の同時除去と発電性能

二槽式MFC (Dual-chamber MFC) のカソード槽における $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ と $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 濃度の変化を図 4.4.1 (A) に示した。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の減少にともない $\text{NO}_2^-\text{-N}$ と $\text{NO}_3^-\text{-N}$ の増加が確認された。また、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ と $\text{NO}_3^-\text{-N}$ の増加量は、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の減少量より少なかった。つまり、受動的酸素供給によりカソード槽で硝化反応と脱窒反応が予想した通りに進行したことが確認された (図 4.1.1)。

本MFCの最大出力密度が 54mW m^{-2} であり、4.2 に述べた Two-chamber MFC よりわずかに低かった。また、CE は 2.7% と算出され、有機物源としてフェノールを用いた既報の 1 ~ 4% とほぼ同じであった (Luo *et al.* 2009; Buitrón *et al.* 2014; Song *et al.* 2014)。嫌気状態では、フェノールがメタン菌、脱窒細菌と硫酸塩還元菌によって分解される (Luo *et al.* 2009)。本MFCの低CEは、そのような嫌気性微生物 (非電気生産細菌) により生じた可能性と考えられる。また、海水に含まれる硫酸塩は電子受容体になることができるため (Du *et al.* 2007)、電子損失引き起こした可能性も考えられる。

アノード槽のDOC濃度とカソード槽の窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ と $\text{NO}_3^-\text{-N}$) 濃度の経時変化を図 4.3.1 (B) に示した。 466 mgC L^{-1} のフェノールが 10 日間以内に除去された。アノード槽の有効容積 (0.5 L) を考慮すると、フェノールの酸化にともない、0.091 mol の電子が生成された。本MFCのCEは2.7%であったため、カソード槽に移動した電子が 0.0025 mol と計算させる。これらの値を用いて、カソード槽における窒素除去の内訳を推定した (図 4.3.2)。 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ または $\text{NO}_3^-\text{-N}$ を電子受容体として除去された場合、0.007–0.011 gN の $\text{NO}_2^-\text{-N}$ または $\text{NO}_3^-\text{-N}$ が電気化学的脱窒によって除去されると計算される。図 4.4.1 (A) に示されたように、カソード槽で 0.194 gN の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ が除去されたことから、硝化細菌の窒素同化量は 0.004–0.009 gN と算出される。また、図 4.4.1 (B) に示されたように、カソード槽で 0.02 gN ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ と $\text{NO}_3^-\text{-N}$) が除去された。これらの値を用いて、生物学的脱窒による窒素除去量は、最終的に 0–0.009 gN と推定される。同じように、CE = 20 % の場合の窒素除去の内訳を推定し、図 4.4.2 に示した。電気化学的脱窒は 0.052–0.081 gN まで向上し、全窒素除去量 (0.056–0.090 gN) の 90–93 % を占めることになる。この試算により、本MFCにおいては、電気化学的脱窒が多くの窒素を除去するプロセスであることが示された。つまり、CEの改善は窒素除去性能を向上させるための鍵であることが明らかとなった。また、有機物除去率は 90% 以上が達成できたとしても、窒素除去率は 18–22% しかないと推定された。窒素除去効率を大きく改善するためには、カソードへの流入水の希釈が必要と考えられる。

電子受容体として 1 mol の $\text{NO}_3^-\text{-N}$ が脱窒に利用されると、5 mol の電子が必要となり (式 3.1.8)、 $358.4\text{ kJ mol N}^{-1}$ のエネルギーを外部回路で回収することができる (Henze *et al.* 2008)。一方、1 mol の $\text{NO}_2^-\text{-N}$ が電子受容体として脱窒に利用される場合、3 mol の電子が

必要であり(式3.1.9)、回収可能エネルギーは $279.7 \text{ kJ mol N}^{-1}$ に相当する (Henze *et al.* 2008)。したがって、 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ を電子受容体として利用すると、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ と比較してより少ない電力を得ることになるが、窒素濃度をより低く除去させることができる。本MFCにおいて、カソード槽には $\text{NO}_2^- \text{-N}$ と $\text{NO}_3^- \text{-N}$ を含んでおり、4.2での二槽式MFCと比べると最大電力密度低かった。一方、前述のように、 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ はシリコン膜を備えたカソード槽に蓄積する。したがって、本研究で考案したシステムは、 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ あるいは $\text{NO}_3^- \text{-N}$ の生成を選択的に制御することにより、エネルギー生成と窒素除去を最適化することが可能となる。さらに、現在、PEMなしのエアカソード型MFCは生活排水に処理によく利用されている。シリコン膜を利用して酸素透過を制御するという本システムの特徴は、そのようなエアカソード型MFCにも適用可能と考えられる。

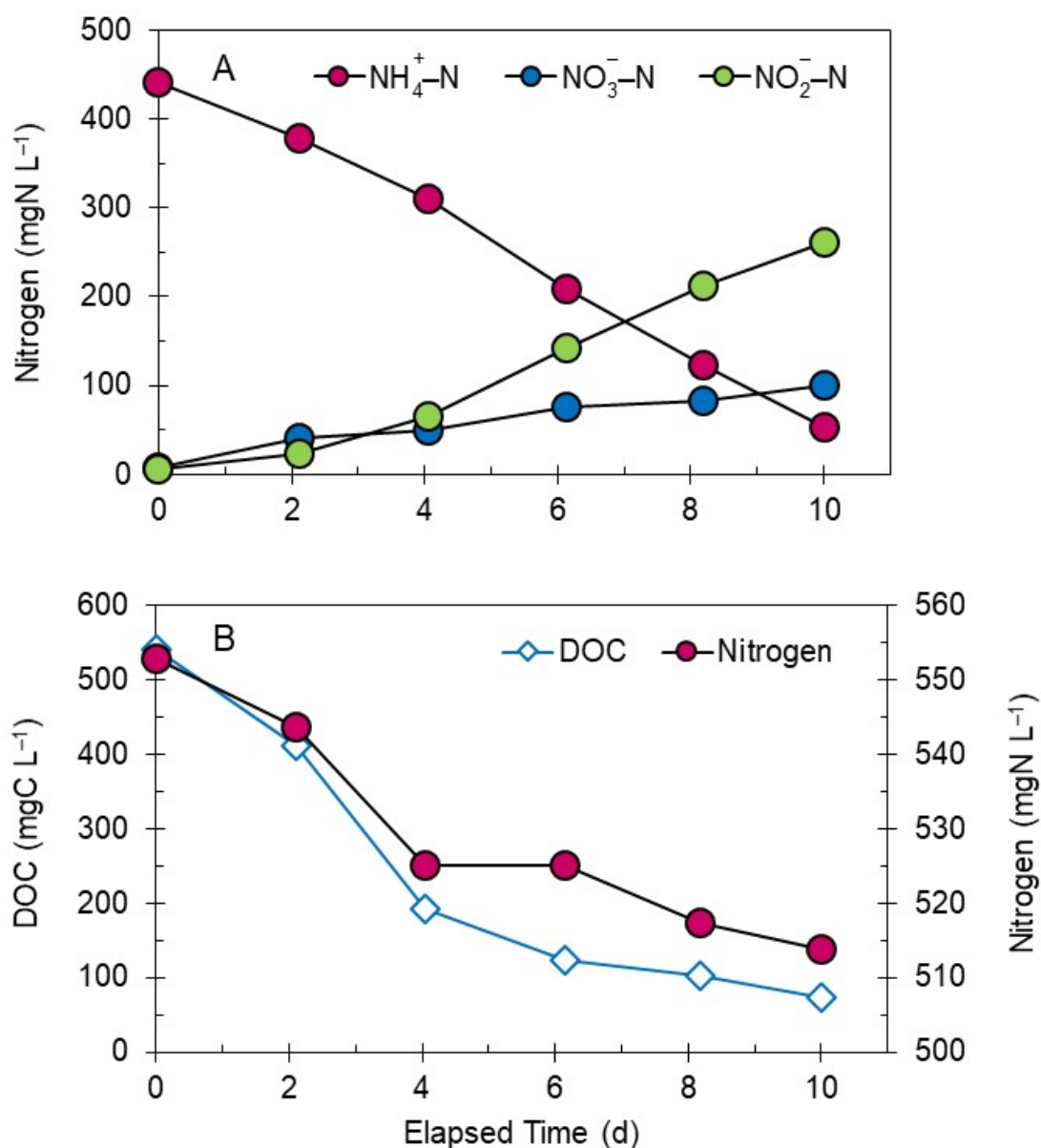


図 4.4.1 二槽式 MFC 有機物除去と発電性能：

(A) $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ と $\text{NO}_3^- \text{-N}$ の経時変化；(B) DOC と窒素の除去

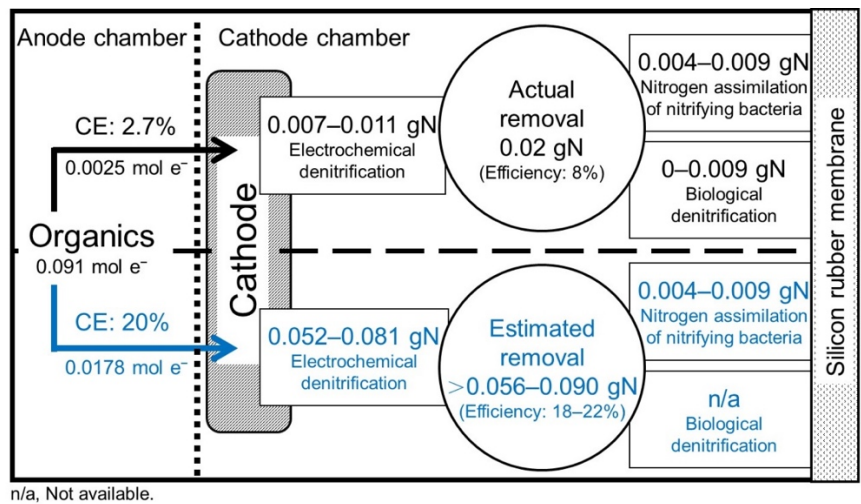


図 4. 4. 2 二槽式 MFC における CE が 2. 7%（実測値）及び CE が 20 %（推定値）のときの窒素除去

第5章

陰イオン界面活性剤が微生物燃料電池の有機物 除去と発電に及ぼす影響

第5章 陰イオン界面活性剤が微生物燃料電池の有機物 除去と発電に及ぼす影響

5.1 MFC の酢酸除去と発電

5.2 LAS 添加時の MFC の有機物除去と発電

5.3 LAS による MFC のクーロン効率の改善

陰イオン界面活性剤の一つである直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（LAS）が MFC の有機物除去と発電性能に及ぼす影響を調べることを目的とした。発電微生物が直接摂取できる単純な有機物を対象とした方が検討しやすいため、5.1 では、酢酸を基質で運転していたエアカソード型 MFC の有機物除去と発電性能を述べた。5.2 では、酢酸と LAS、LAS のみをそれぞれ流入させて、MFC の有機物除去と発電性能を調べた。5.3 では、5.1 と 5.2 のまとめとして、LAS が MFC のクーロン効率に及ぼす影響を検討した。

5.1 気体透過膜の受動的酸素供給を利用した二槽式微生物燃料電池

の考案

5.1.1 MFC の酢酸除去と発電

MFC の出力が安定した 108–110 サイクルの電圧を図 5.1.1 に示した。110 サイクル目に着目すると、酢酸濃度の減少や電圧の増減が確認された。12 h 以内に酢酸が除去され、最大で 0.15 V の電圧が得られた。このような酢酸濃度や電圧の傾向は、この直前の 2 サイクルでも同様であった。したがって、MFC は酢酸を利用して安定的に発電を行っていることが確認できた。そこで、本 MFC を用いて、後述する LAS 添加の影響が評価できると判断した。

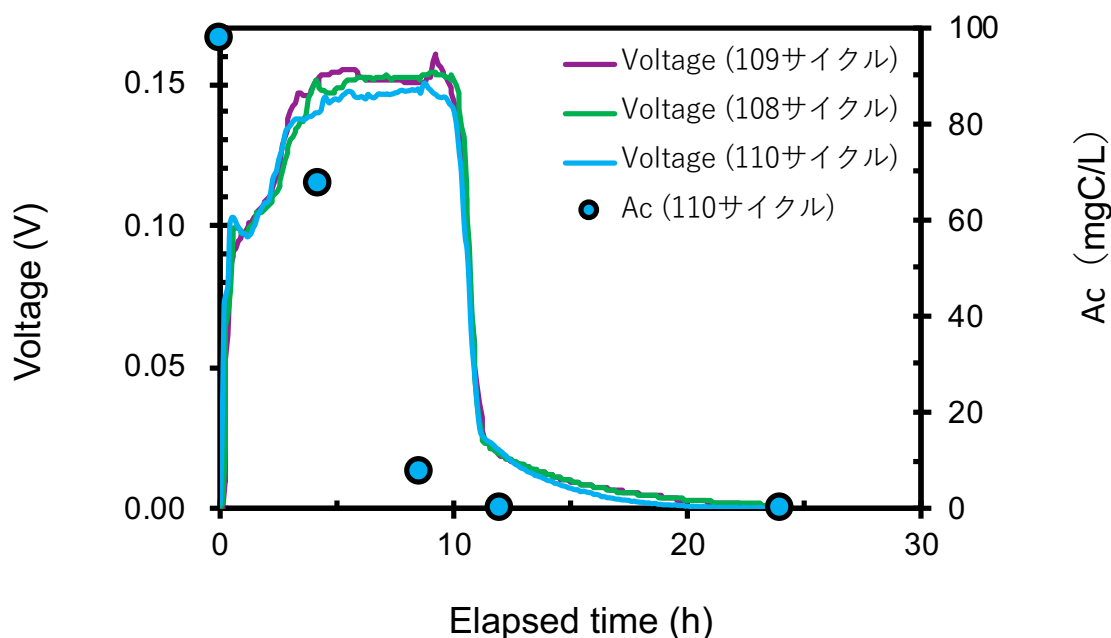


図 5.1.1 108–110 サイクルにおける MFC の電圧の経時変化

5.2 LAS 添加時の MFC の有機物除去と発電

5.2.1 MFC の酢酸除去と発電

酢酸のみ (Run1)、酢酸と LAS (Run2) を MFC に流入したときの 1 サイクルの酢酸濃度と電圧を図 5.2.1 に示した。Run1 では酢酸は 12 時間以内に除去されていたが、Run2 では 18 時間も要した。つまり、LAS が存在する Run2 のほうが Run1 よりも酢酸の除去速度が低くなった。

これらの Run の電圧を比較すると、最大値はいずれも約 0.15 V でほとんど差がなかった。一方、電圧は酢酸が除去された後に減少し始めた。0.02 V になるまでの時間は、Run1 では 12 時間、Run2 では 20 時間であった。それぞれの Run で回収できた電荷量を算出すると、

Run1 は 55 °C であったのに対し、Run2 は 91 °C であり、Run1 の約 1.7 倍であった。Run2 の流入水の有機物濃度 (130 mgC L^{-1}) が Run1 (100 mgC L^{-1}) の 1.3 倍であったことを考慮すると、この多く回収できた電荷量は 30 mgC L^{-1} の LAS 添加による流入炭素量の増加だけでは説明がつかない。

Run1、Run2 の出力-電流曲線と電圧-電流曲線を図 5.2.2 に示した。Run1 では電流密度が 511 mA m^{-2} のときに最大出力密度は 74 mW m^{-2} であった。同じナフィオン膜を用いた既報 (Asensio *et al.* 2018) では約 200 mW m^{-2} を報告しており、本 MFC より高い。基質として投与していた酢酸の濃度は $5000 \text{ mgCOD L}^{-1}$ (1873 mgC L^{-1}) (Asensio *et al.* 2018) であるため、本 MFC の 100 mgC L^{-1} より高い。そのため、本 MFC より高い最大出力密度が得られたと考えられる。一方、Run2 では電流密度が 420 mA m^{-2} のときに最大出力密度は 74 mW m^{-2} であった。分極曲線を用いて内部抵抗を算出したところ、Run1 では 157Ω であったのに対し Run2 では 200Ω であった。最大出力時の電流密度の違いは、この内部抵抗値の違いが影響していた。ただし、 30 mgC L^{-1} の LAS を添加しても、最大出力密度には影響しなかった。

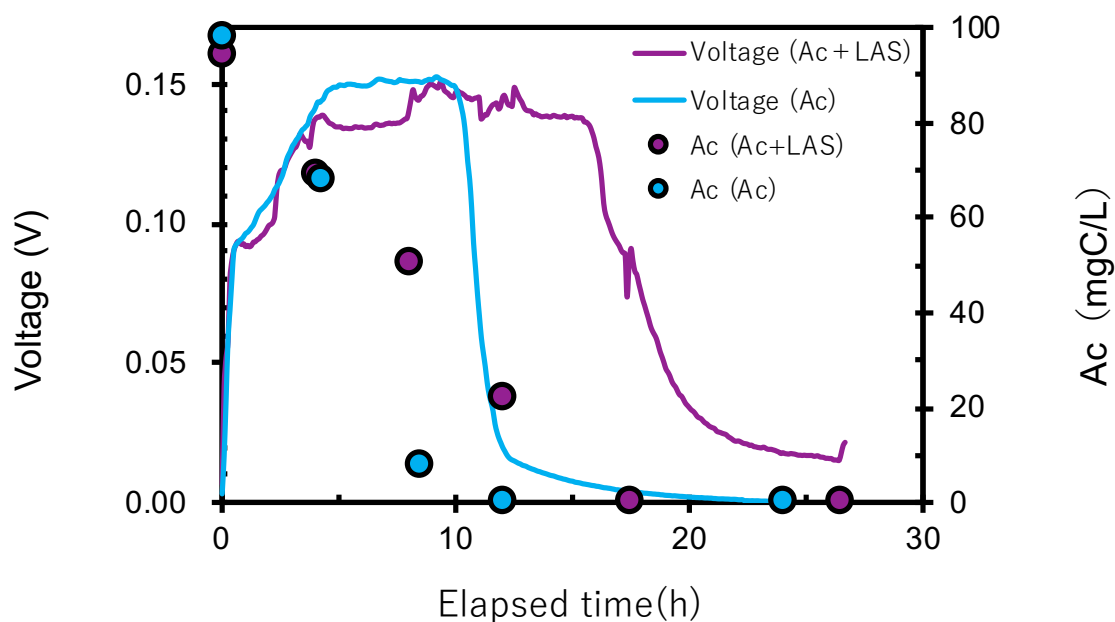


図 5.2.1 酢酸のみ (Run1) および酢酸と LAS (Run2) 投入時の MFC の酢酸濃度と電圧の経時変化

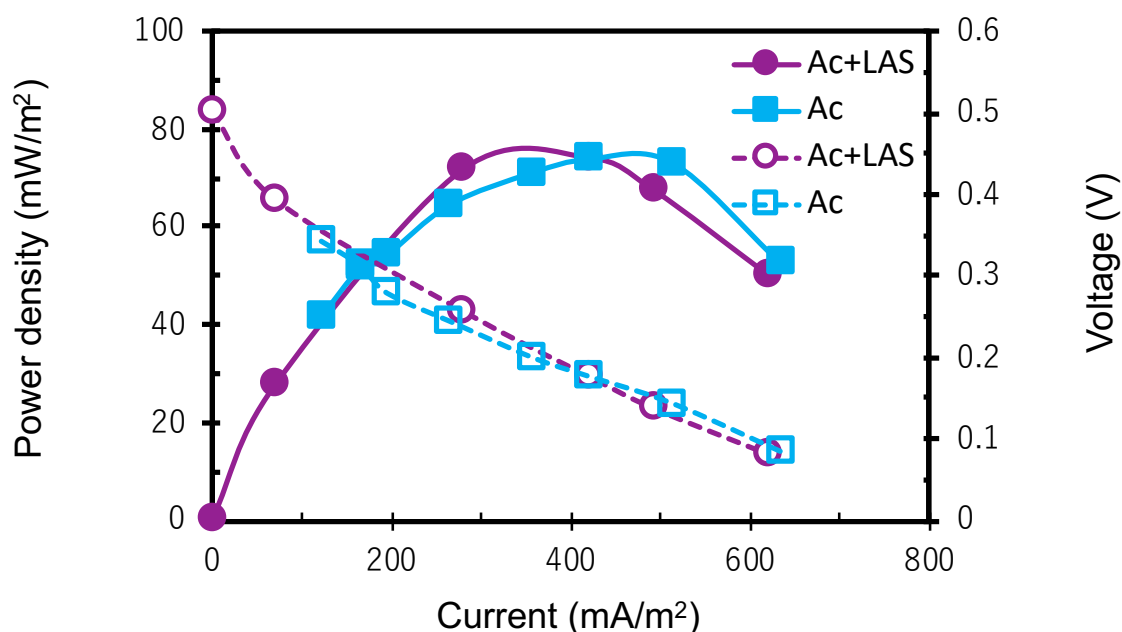


図 5.2.2 酢酸のみ (Run1) および酢酸と LAS (Run2) 投入時の MFC の出力—電流曲線と電圧—電流曲線

5.2.2 MFC における LAS の分解

LAS のみを投入した Run3 の LAS 濃度と電圧を図 5.2.3 に示す。流入水中の LAS 濃度は 100 mgC L^{-1} であったが、流入直後には 86.2 mgC L^{-1} に低下した。流入とともにすみやかに吸着したものと考えられる。その後は LAS 濃度の減少が確認された。これにともない電圧の増減が確認され、最大で 0.025 V を示した。つまり、LAS は発電微生物の電気生産に利用されたことが確認された。

MFC における LAS の C10～C13 の減少率を図 5.2.4 に示した。合計で見ると、24 時間で 45.3 % の LAS が減少した (吸着除去量を除くと 31.5 %)。これまで、LAS の好気性分解は多く報告されている (Larson *et al.* 1993)。LAS はアルキル基の末端から好気性微生物に酸化され低分子化される (Tsuji *et al.* 2009)。また、アルキル基の炭素数が多い LAS ほど生分解されやすいという特性がある (天野, 1989)。一方、最近では上昇流嫌気性汚泥床 (UASB) 法 (Okada *et al.* 2014) や膨張汚泥床 (EGSB) 法 (Centurion *et al.* 2018) 等における LAS の嫌気性分解も報告されている。その分解経路はアルキル鎖へのフマル酸付加から、続いて β -酸化反応、環開裂および脱スルホン化の 4 段階に分けられることが報告されている (Delforno *et al.* 2019)。ただし、C10～C13 の分解性までは議論されていない。

前述したように、本実験では MFC の槽内上部は密閉されており、槽内の気相は窒素ガスで置換されている。しかし、エアカソード型 MFC では空気中の酸素がエアカソードや陽イオン交換膜を透過することが知られている (Liu *et al.* 2004)。そのため、アノードに好気性微生物が存在することが報告されている (Pinto *et al.* 2010)。これらの知見を踏まえると、本実験においては LAS の好気性分解と嫌気性分解のどちらが卓越したかは判断できないが、

LAS は C13 から C10 の順にアルキル基の炭素数が多いものほど減少率が高く、好気性分解に類似した傾向が見られた (図 5.2.4)。なお、Run2 でも同様の傾向が得られている。

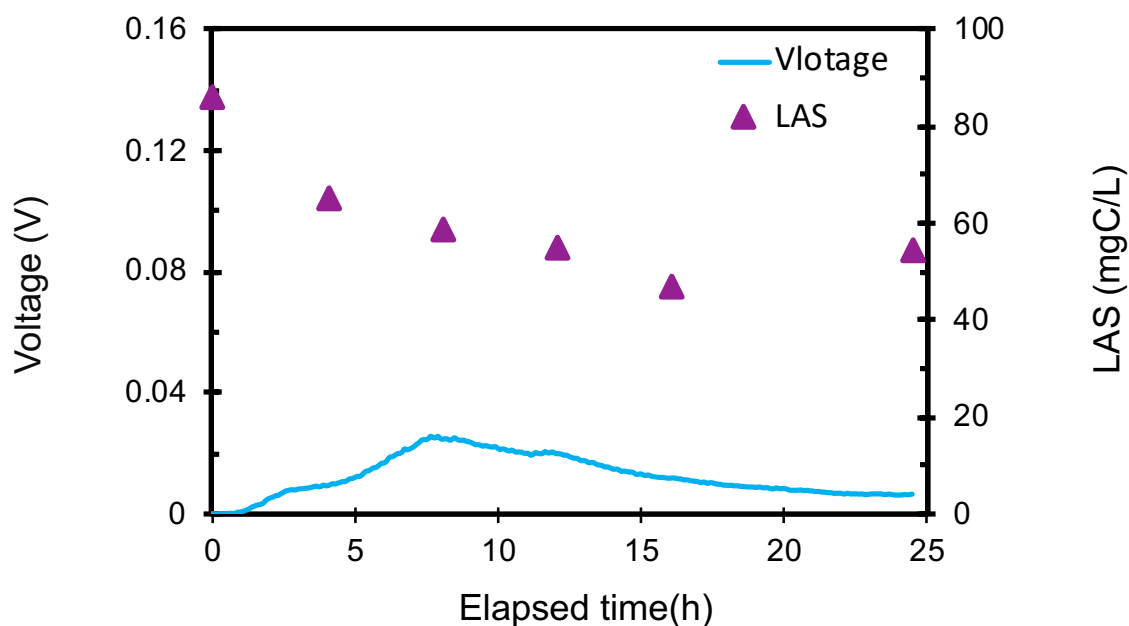


図 5.2.3 LAS のみ (Run3) 投入時の MFC の LAS 濃度と電圧の経時変化

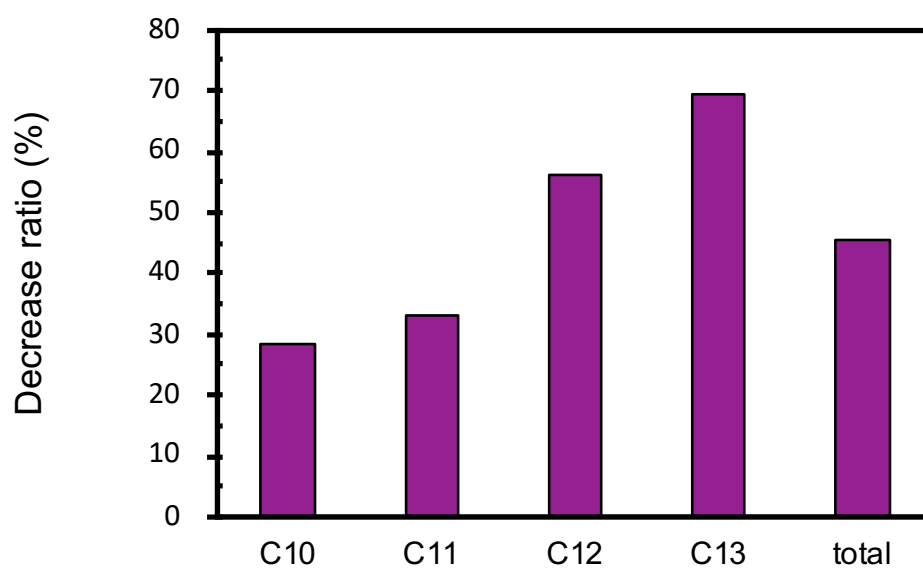


図 5.2.4 LAS のみ (Run3) 投入時の MFC における LAS の減少率

5.3. LAS による MFC のクーロン効率の改善

Run2 における LAS の発電への寄与を評価するために、Run1 から Run3 までの CE を比較した (図 5.3.1)。実験で得られた CE は Run1、Run2、Run3 の順に、3.4 %、4.6 ~ 5.5 %、1.1 ~ 1.6 %であった。Run1 を例にとると、除去された酢酸のうち 3.4 %は発電に使われたということを表している。既報では、MFC の CE は 0.04 %から 97 %にまでの範囲で様々な値が報告されている (Luo *et al.* 2009)。CE に影響する要因として、発電に寄与しない従属栄養細菌 (競合微生物) の有機物摂取や硫酸塩等の非電極電子受容体による電子の受け取り等が挙げられている (Song *et al.* 2014)。前述したように、本実験の MFC の運転では攪拌を行っていた。また、サイクルごとに 0.5 L の処理水を全量引き抜いていた。しかし、1 サイクルの運転内で装置内に目視で確認できる浮遊物質が存在していた (図 5.3.2)。これが付着生物膜から剥離した微生物とすると、攪拌によりその有機物摂取が促進する。そのため、CE は 3~5 %に留まったものと考えられる。

Run3 では除去された LAS うちの 1.1~1.6 %が発電に使われていた。ここで、Run1、Run3 の条件と結果を用いて Run2 の CE を試算した。除去された 100 mgC L^{-1} の酢酸のうち発電に使われたのは Run1 と同じ 3.4 mgC L^{-1} であったとして、除去された $9.4\sim13.6 \text{ mgC L}^{-1}$ の LAS のうち発電に使われたのは 0.15 mgC L^{-1} と計算された。これらの結果を用いて Run2 の CE を計算すると 3.1~3.3 %と見積もられた。この理論値は、Run2 の実測で得られた 4.6~5.5 %の CE より低かった。つまり、LAS が発電の有機物源として寄与しただけでは実測の CE には達しない。

Wen ら. (2011) は非イオン界面活性剤である Tween 80 ($0\sim80 \text{ mg L}^{-1}$) をグルコース基質 (1000 mg L^{-1}) で運転していたエアカソード型 MFC に添加したところ、最大出力密度が 0.6 から 5.2 W m^{-2} に増加し、MFC の内部抵抗が 27.0 から 5.7Ω に減少したと報告している (Dereszewska *et al.* 2015)。そして、この出力の改善は Tween 80 が細胞膜の透過性を向上させることにより、細胞膜を通る電子伝達抵抗を減少させたことに由来したと考察されている。また、非イオン界面活性剤である rhamnolipid をエアカソード型 MFC に添加した研究例でも同様の報告がなされている (Wen *et al.* 2010)。しかし、非イオン界面活性剤と異なり、陰イオン界面活性剤である LAS は微生物に対して界面活性剤として影響するのみでなく、細胞膜の内外での電荷のバランスに影響することもあると考えられる。

微生物の膜輸送では、細胞膜でのプロトン駆動力が重要である。プロトン駆動力は細胞膜を介した電荷勾配と pH 勾配により支配される (Comeau *et al.* 1986)。しかし、陰イオン界面活性剤が存在すると、この電荷勾配は影響される可能性がある。生物学的りん除去を行うりん蓄積細菌 (PAOs) に LAS を投与した既往の研究では、PAOs の細胞表面に吸着した LAS が細胞膜間を通じた物質輸送に影響を及ぼし、酢酸摂取の速度やエネルギー効率を低下させたことを報告している (Tsuji *et al.* 2009)。このように、LAS は MFC のアノードに付着する微生物群の細胞膜での物質輸送に影響した可能性が考えられる。

MFC のアノードにおいて、発電微生物の他に有機物を摂取するが発電しない競合微生物

が存在する (Liu *et al.* 2004)。特に好気性の競合微生物は有機物摂取速度が嫌気性の発電微生物より速いため、MFC の発電性能を低下させる (Basura *et al.* 1998)。5.2.2 で述べたように、酢酸に加えて LAS が存在する場合、MFC の電圧の最大値は酢酸のみのときとほぼ同じであったにもかかわらず発電時間が約 8 h も長く、より多く電荷量を作り出していた。MFC の付着生物膜においては、競合微生物は表面近くに多く存在し、発電微生物は深部に多く存在している (Marcus *et al.* 2007) ことを前提として、以上の知見を踏まえると、LAS の存在により MFC のクーロン効率が改善されたことに対して、以下のメカニズムが考えられた。LAS を流入させるとアノード表面に存在する競合微生物の膜輸送が影響を受け、酢酸の摂取が制限された。その結果として、発電微生物がより多くの酢酸を摂取することができ、MFC のクーロン効率が改善されたと考えられる。

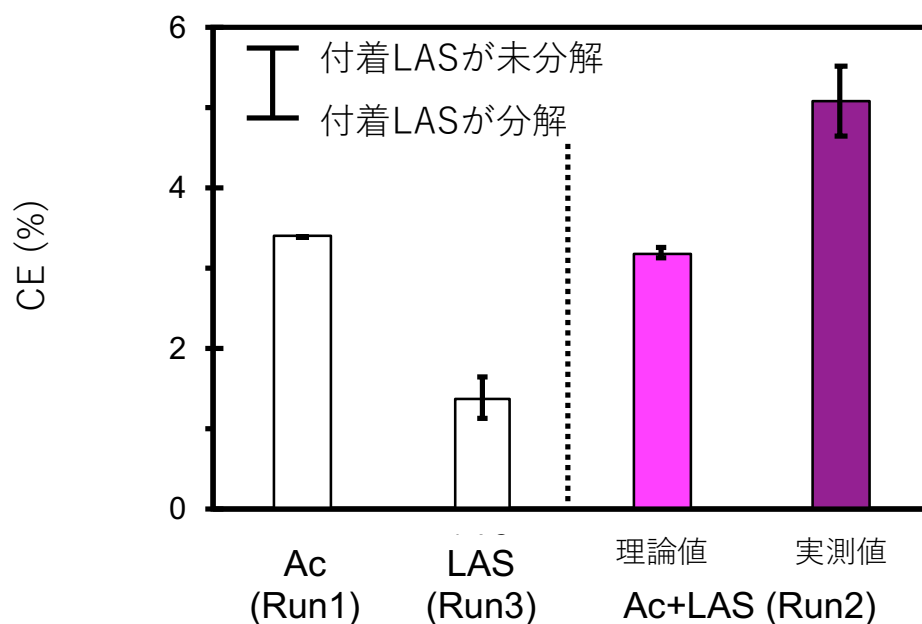


図 5.3.1 Run1-Run3 の CE の比較

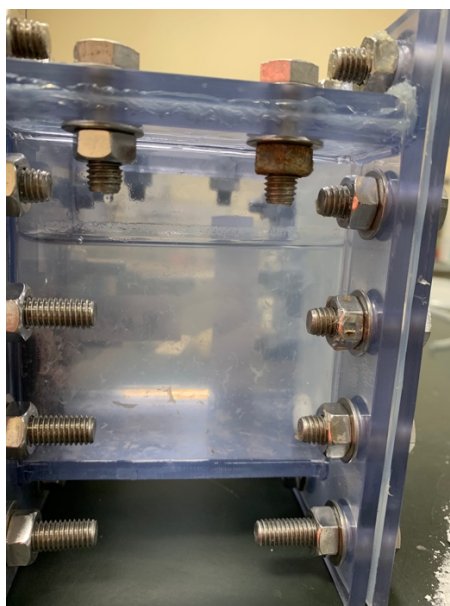


図 5.3.2 1 サイクルの運転内で装置内に目視で確認できる浮遊物質

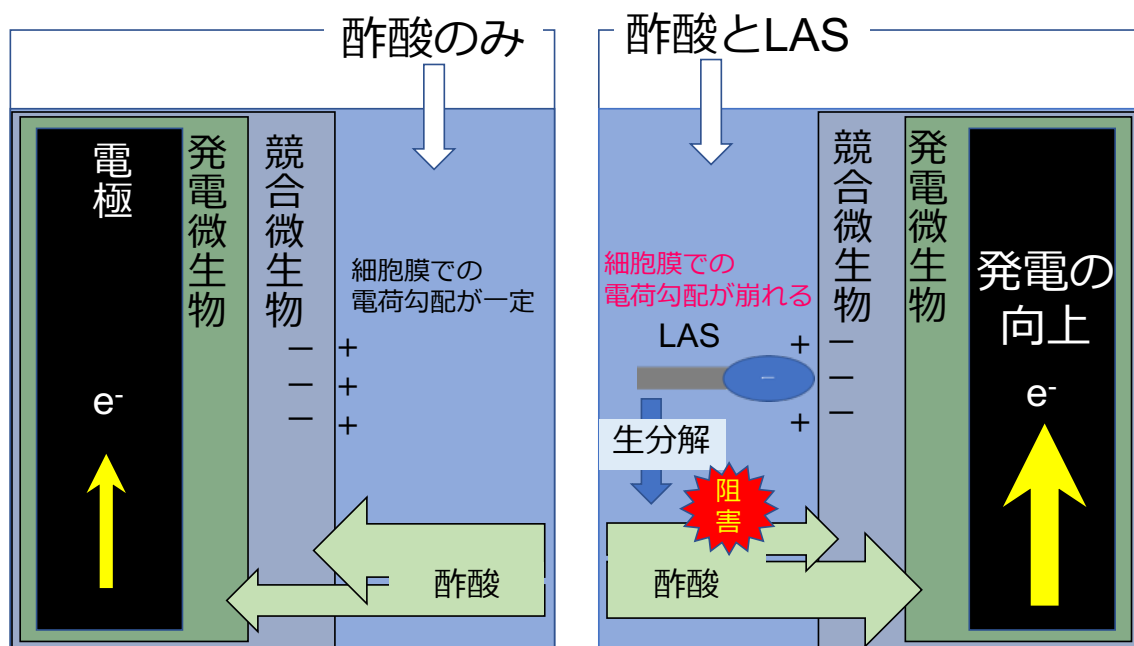


図 5.3.3 LAS が発電に寄与したメカニズム

第6章

発電効率に影響する微生物パラメーターの抽出 と抗酸化バイオマーカーの利用可能性

第6章 発電効率に影響する微生物パラメーターの抽出と 抗酸化バイオマーカーの利用可能性

- 6.1 MFC 数学モデルによる CE を改善する要素
の抽出
- 6.2 好気性微生物の抗酸化力の評価
- 6.3 好気性微生物の抗酸化力が MFC の発電効
率に及ぼす影響の検討

本章では、数学モデルを利用して CE を影響する微生物のパラメータを評価し、さらに好気性微生物の抗酸化応答という生化学的な視点で CE を改善する可能性の検討をした。6.1 では、競合微生物を組み込んだ次元アノード生物膜モデルを用いて、CE に対して微生物の各パラメーターの感度解析を行い、感度の高いパラメーターを抽出した。6.2 では、MFC における好気性微生物を想定し、ORAC 法を活性汚泥に適用し、微生物の総抗酸化力を評価する手法を確立した。また、ORAC 法により都市下水処理場における標準活性汚泥の ORAC の動態を調べ、さらに嫌気—好気のバッチ試験で活性汚泥の ORAC の応答を調べることで、有機物濃度と活性汚泥の ORAC の関係を整理した。6.3 では、6.1 と 6.2 の知見に基づき、微生物の ORAC の視点から、その抗酸化力が CE に及ぼす影響を検討した。

=====

6.1 MFC 数学モデルによる CE を改善する要素の抽出

6.1.1 競合微生物を組み込んだ一次元アノード生物膜モデルの再現性

競合微生物を組み込んだ一次元アノード生物膜モデル（趙、2019）による計算した 1 サイクルの運転での酢酸濃度変化と電流密度を図 6.1.1 に示した。酢酸濃度について、実測値とモデルの計算結果を比較すると、0.5 d までモデルでは酢酸濃度の減少を若干速く計算したが、概ね実験値を再現することができた（趙、2019）。また、電流密度について、モデルでは最大の電流密度を若干実験値より高く計算したが、その発電過程を概ね再現できた（趙、2019）。そこで、本モデルを用いて、CE に対して微生物の各パラメーターの感度解析を行った。

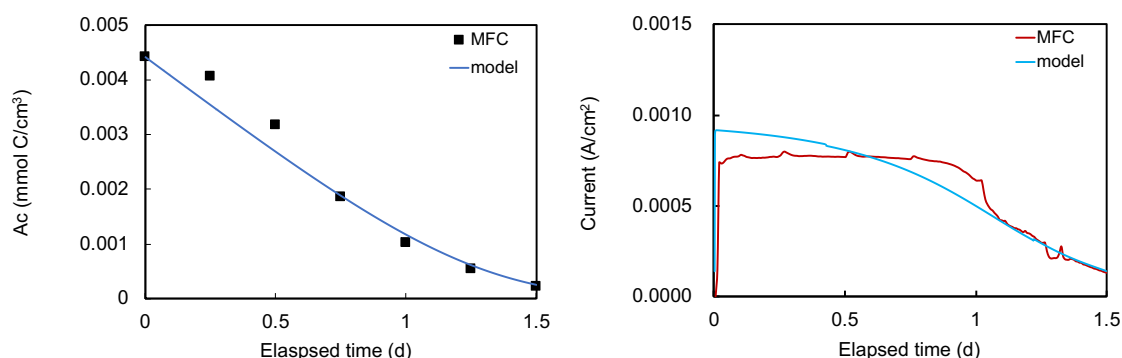


図 6.1.1 MFC モデルの計算値と実験値：A 酢酸除去；B 電流密度

6.1.2 CE に対する感度解析

感度解析の結果を表 6.1.1 に示した。その結果、CE に対して競合微生物の増殖収率 Y_H が最も高い値を示しており、「影響が非常に強い ($2 \leq S_{ij}$)」と判定された。また、発電微生物と競合微生物の最大有機物消費速度も「影響が非常に強い」と判定された。

表 6.1.1 CE に対する微生物の各パラメーターの感度解析

	b_{resE}	b_{resH}	Y_E	Y_H	b_{det}	K_{bio}
CE	0.53	1.87	1.69	3.35	1.77	0.34
	q_{maxE}	q_{maxH}	K_{SE}	K_{SH}	b_{inaE}	b_{inaH}
CE	2.47	2.47	0.79	1.4	0.87	0.31

6.2 好気性微生物の抗酸化力

6.2.1 活性汚泥の EPS の総抗酸化力

活性汚泥の EPS と細胞内の溶解性タンパク質量を図 6.2.1 に示した。EPS の溶解性タンパク質量は $36 \pm 4 \sim 44 \pm 10 \text{ mg g}^{-1} \text{VSS}$ であり、既報 (Liang, 2010) と同レベルであった。また、EPS と細胞内の溶解性タンパク質の合計に対し、EPS は約 8 割を占めていた。そのため、活性汚泥の細胞内の ORAC を評価するためには、EPS の溶解性タンパク質を取り除く必要がある。以上のように、本手法により、細胞外 (EPS) と細胞内の溶解性タンパク質をわけて抽出できたとと言える。

活性汚泥の EPS と細胞内の ORAC を図 6.2.2 に示した。EPS と細胞内の ORAC 値の合計に対し、EPS は約 5 割を占めていた。抗酸化成分は細胞内で合成されるものであり、その分子量が 10^5 以上 (Marklund, 1982) もあるため、細胞膜を通過できない。そこで、EPS が ORAC を示した理由は活性汚泥がファージで溶菌された後に、細胞内の抗酸化物質が EPS に含まれたことが考えられる。ROS は細胞内での好気代謝過程で生成されるか、紫外線の照射で生成される (吉川敏一, 2011) ため、対象とした処理場の反応タンクに ROS が存在することが考えにくい。しかし、ファージの溶菌により細胞内から ROS が溶出することが考えられるため、EPS に抗酸化物質が存在するとこのような ROS から微生物の細胞損傷を守る役割を働くことが考えられる。EPS は架橋結合によりフロックの形成に重要な役割を果たす (Shi *et al.* 2017) が、その他に EPS は抗酸化能をもつ可能性が示された。

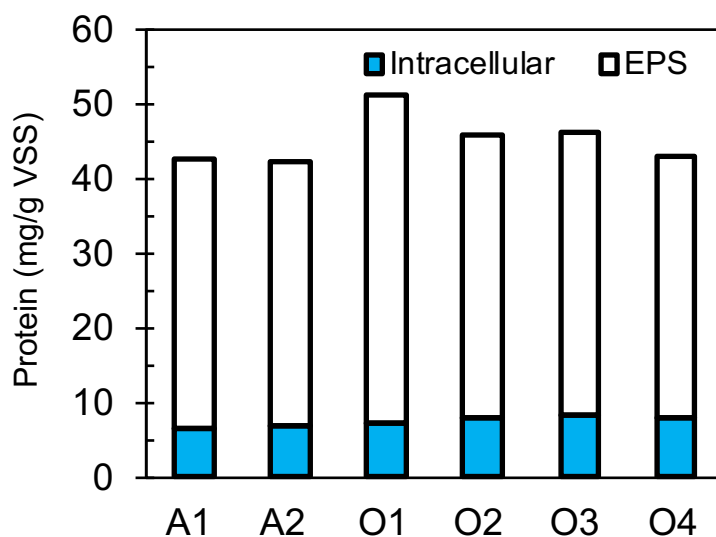


図 6.2.1 活性汚泥の EPS と細胞内タンパク

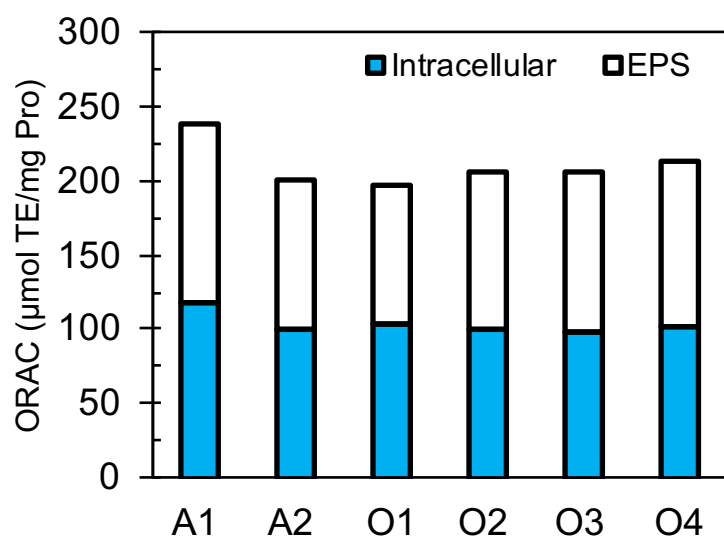


図 6. 2. 2 活性汚泥の EPS と細胞内タンパクの ORAC

6.2.2 活性汚泥の EPS の総抗酸化力

各槽から採取した活性汚泥の ORAC と DOC の結果を図 6.2.3 に示した。DOC は A1 槽から O4 槽まで減少した。一方、ORAC の値には大きな差がなかった。好気性生物は好氣的な代謝をすると、細胞内で活性酸素種の生成と抗酸化成分の合成が行われる(Regoli *et al.* 2014)。A1 槽と A2 槽では曝気はされていなかったが、開放されているため、空気中の酸素が槽内に透過し、活性汚泥に利用されたことは十分に考えられる。この場合、細胞内で活性酸素種が生成し、抗酸化成分が消費されることになるが、調査日により A1 槽の流入水の有機物濃度は異なるため、A1 槽と A2 槽では ORAC がばらついていていたと考えられる。

一方、曝気されていた O1 槽から O4 槽では、活性汚泥微生物の細胞内において抗酸化成分の消費と合成が同時に起こるため、ORAC はそれほど変化がなかったと考えられる。また、O1 槽から O4 槽では、A1 槽、A2 槽とは対照的に ORAC のばらつきが収まる傾向が見られた。好気性微生物は有機物を利用して抗酸化成分を合成する(Cabiscol *et al.* 2000)。有機物を利用するときに細胞内で抗酸化成分の消費と合成が起こるため、ORAC は処理場の前段で流入有機物濃度の違いにより相対的に大きいばらつきを示したのに対し、後段では利用できる有機物が減少したため、ばらつきが相対的に小さかったものと考えられる。以上の結果より、反応槽での有機物濃度は活性汚泥微生物の総抗酸化力に大きく影響することがわかった。

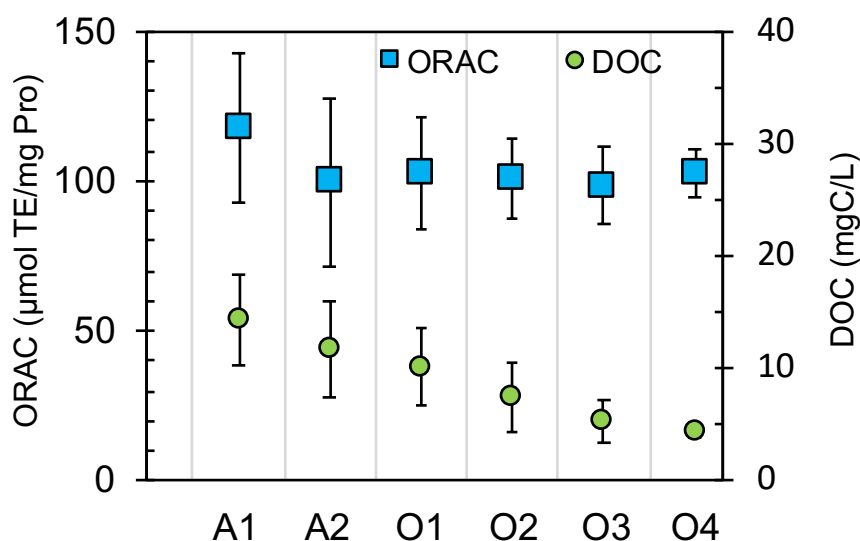


図 6.2.3 各槽内の DOC 濃度と活性汚泥の ORAC

6.2.3 嫌気—好気条件における有機物濃度と活性汚泥の ORAC の関係

嫌気—好気条件における酢酸濃度 (Ac) と活性汚泥の ORAC を図 6.2.4 に示した。Ac 濃度は実験期間中で減少する一方であり、活性汚泥により除去されていた。ORAC に着目すると、嫌気条件 (0-1 h) においては ORAC に変化がなかった ($p < 0.05$)。嫌気では活性汚泥は有機物を摂取できるが、好氣的な代謝ができない。そのため、細胞内で ROS が生成されず、ORAC には変化がなかったことが考えられる。一方、好氣的な好気条件において 1.5

第6章 発電効率に影響する微生物パラメーターの抽出と抗酸化バイオマーカーの利用可能性

h の ORAC は減少し、2 h になると ORAC は実験開始時と同じレベルに戻った ($p < 0.05$)。つまり、1.5 h までに活性汚泥は細胞内の抗酸化物質が消費され、その後摂取した酢酸を利用して抗酸化物質を合成したことが確認された。また、好気条件において、0.5 h 以内で活性汚泥の ORAC の変化を調べることができることと示唆された。

前述したように、好気性微生物は好氣的代謝により細胞内で生成された ROS に抵抗するために、抗酸化物質を合成する (Regoli *et al.* 2014) ことが知られていたが、本論文では初めて ORAC 法を用いて確認することができた。

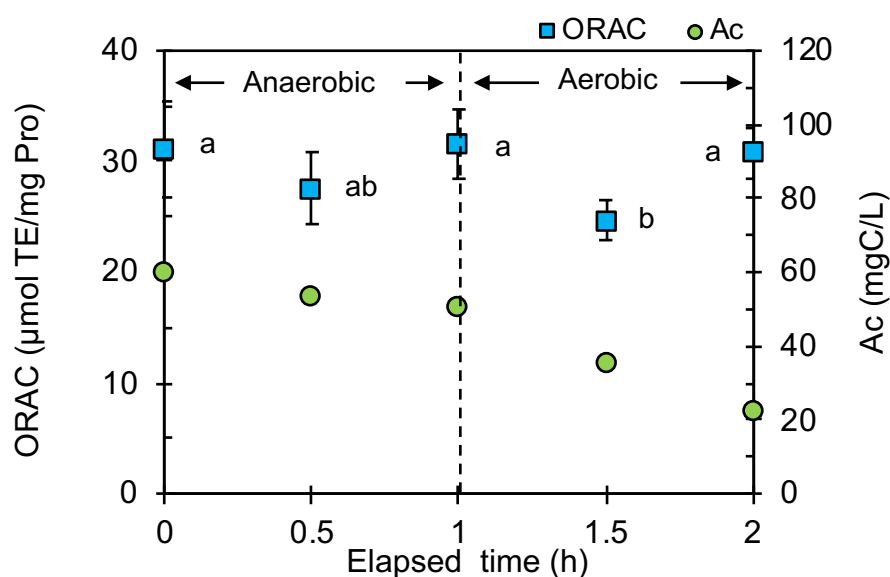


図 6.2.4 嫌気—好気条件における有機物濃度と活性汚泥の ORAC の挙動

6.3 好気性微生物の抗酸化力が MFC の発電効率に及ぼす影響の検討

競合微生物を組み込んだ一次元アノード生物膜モデルを用いて、CE に対して発電微生物と競合微生物の各パラメーターの感度解析を行った結果、競合微生物の増殖収率が CE に与える影響が「非常に強い」ことが示された。反応速度論では、増殖収率は定数で与えられるのが一般的である。しかし、アノードに付着した好気性競合微生物は、陽イオン交換膜カソードや PTFE カソードから酸素が透過するため、実際には増殖収率が変動する可能性も考えられる。6.2.3 で確認されたように、好気性微生物は有機物を酸化分解することにより細胞内では活性酸素種が生成することが知られているが、細胞を防御するために抗酸化物質が合成される。これには有機物が利用されるため、増殖に使われる有機物が少なくなれば、増殖収率は小さくなると考えられる (図 6.2.5)。前述した感度解析の結果を踏まえると、好気性競合微生物の抗酸化力が変動すると、発電性能に影響する可能性が仮説として十分に考えられる。しかし、MFC のアノードに付着した微生物群では、連続的に採取して抗酸化力を評価することが難しいことが課題となる。

第6章 発電効率に影響する微生物パラメーターの抽出と抗酸化バイオマーカーの利用可能性

本論文では、都市下水処理場の標準活性汚泥を対象に ORAC 法を適用し、反応槽の有機物濃度は活性汚泥の総抗酸化力に大きく影響すること、活性汚泥は好気条件で抗酸化物質の消費と有機物を摂取しながら抗酸化物質を合成することが確認された。つまり、活性汚泥の細胞外の有機物濃度は抗酸化物質の合成に大きく影響することが明らかとなった。本論文では、増殖収率に対する影響までは調べられなかったが、前述したように MFC の構造上、アノード槽に酸素が透過するとともに、有機物濃度も時系列変化するため、同様の現象が起こる可能性がある。一方、エアカソード型 MFC の場合、有機物濃度やカソードからの酸素透過はある程度制御できるため、好気性競合微生物の増殖収率を調整できる可能性がある。以上のことから、アノード付着微生物群の抗酸化力の視点から、CE の向上を検討するという新しい研究の視点が見出された。

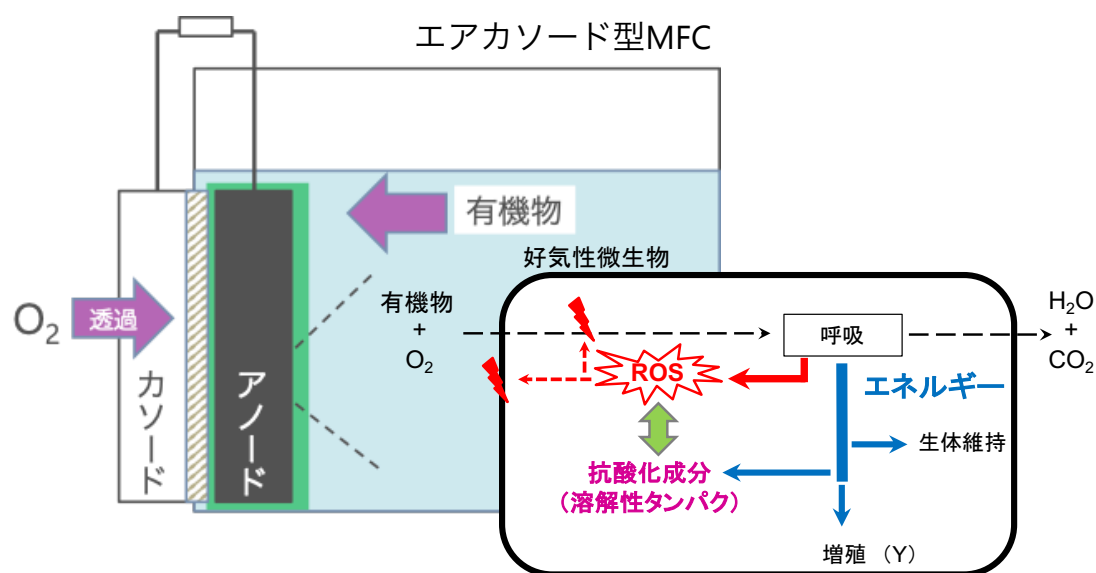


図 6.2.5 MFC における好気性微生物の抗酸化反応機構でのエネルギー利用

第 7 章

結論

第7章 結論

7. 結論

本章では、本研究で得られた結論を記載する。

=====

7. 結論

第4章では、MFCによる有機物・窒素の同時除去をエネルギーフリーで達成するために、酸素透過性能の高いシリコン膜を導入した二槽式MFCを構築し、受動的酸素供給による有機物・窒素の除去と発電性能を調べることを目的とした。また、そのMFCを構築する前に、シリコン膜の受動的な酸素供給による硝化性能を明らかにした。以下に得られた知見を示す。

- ・ シリコン膜に硝化細菌を付着させた場合の硝化速度はシリコン膜のみの場合の理論的な硝化速度（受動的に供給された酸素がすみやかに硝化反応に利用されると仮定）と比べ、約18倍も高かった。
- ・ 酸素は受動的にシリコン膜を通じて供給されていた場合の硝化速度は曝気時の約34%を占めた。また、シリコン膜を利用することにより、 NO_2^- -N または NO_3^- -N の生成を制御できる可能性が示唆された。
- ・ シリコン膜を導入した二槽式MFCのCEは2.7%で、最大出力密度が 54 mW m^{-2} を達成した。
- ・ CEの向上は窒素除去効率を高める鍵であることが示された。

本論文では、受動的に酸素供給することを目的で初めてシリコン膜を二槽式MFCに導入し、それによりエネルギーフリーで有機物・窒素除去と発電ができることを明らかにした。さらに、シリコン膜の利用により、 NO_2^- -N あるいは NO_3^- -N の生成を選択的に制御できることが示されたため、エネルギー生成と窒素除去を最適化することが可能となると示された。また、本MFCのCEを向上させることが窒素除去効率を高めるポイントであることが示唆された。

第5章では、陰イオン界面活性剤であるLASに着目し、MFCの有機物除去と発電に及ぼす影響を明らかにした。その結果、以下の知見が得られた。

- ・ エアカソード型MFCにおいては、LASはアルキル基の炭素数が多いものから分解され、24時間で45.3%が除去され、発電にも利用されることがわかった。
- ・ LASが存在するとMFCの最大出力密度は変化しなかったが、クーロン効率は理論値よりも1.5-2.2%向上した。
- ・ 発電には寄与しない競合微生物がLASの影響を受け、有機物摂取が制限されたことが、CEが改善された原因と考えられた。

本論文では、初めて陰イオン界面活性剤であるLASはMFCのCEを改善できる結果を見出した。特にLASの存在により競合微生物の有機物摂取が制限されることが、従来MFCの構造などで工夫することによりCEを改善する方法と根本的に違うところである。本知見を汎用的に表現することを目的とすると、MCEの有機物除去と発電に対して、長期的にLASの影響を調べることで、最適なLASの濃度を把握することが今後の課題として挙げられる。

第7章 結論

第6章では、数学モデルを利用してCEを影響する微生物のパラメータを評価した。そして、MFCにおける好気性競合微生物を想定し、ORAC法を標準活性汚泥に適用し、その総抗酸化力を調べた。さらに、好気性微生物の抗酸化バイオマーカーという生化学的な視点でCEを改善する可能性の検討をした。その結果、以下の知見が得られた。

- ・ 競合微生物を組み込んだ次元アノード生物膜モデルを用いて、CEに対して微生物の各パラメータの感度解析を行い、競合微生物の増殖収率は非常に高い感度を示した。
- ・ EPSは抗酸化能をもつ可能性が示された。
- ・ 好気槽の有機物濃度は活性汚泥の総抗酸化力を大きく影響することがわかった。活性汚泥の増殖収率にも影響を及ぼす可能性が示された。
- ・ 活性汚泥は好気条件で抗酸化物質の消費と有機物を摂取しながら抗酸化物質を合成することも確認された。

本論文では、活性汚泥のORACが増殖収率に対する影響までは調べられなかった。しかし、MFCの構造上、アノード槽に酸素が透過するとともに、有機物濃度も時系列変化するため、上述の結果と同様の現象が起こる可能性がある。つまり、MFCにおける好気性競合微生物の抗酸化力が変動すると、その増殖収率が変動し、最終的にCEに影響する可能性が考えられた。

本論文では、シリコーン膜の受動的な酸素供給により、MFCは持続可能で有機物・窒素除去と発電ができることを明らかにした。またCEの向上はその窒素除去効率を高める鍵であることが示された。CEを向上させるために、MFCのアノードに着目した。その結果、LASはCEを向上させる効果があることを明らかにした。また、数学モデルにより競合微生物の増殖収率がCEを非常に強く影響するパラメータであることが示された。さらに、MFCにおける好気性競合微生物を想定し、ORAC法を標準活性汚泥に適用し総抗酸化力を調べた。その結果、細胞外の有機物濃度は総抗酸化力を影響することが示され、活性汚泥の増殖収率にも影響を及ぼす可能性が示された。MFCの実用化研究において主流となるエアカソード型MFCの場合、有機物濃度やカソードからの酸素透過はある程度制御できるため、好気性競合微生物の増殖収率を調整できる可能性がある。以上のことから、アノード付着微生物群の抗酸化力の視点から、CEの向上にアプローチできる新しい研究の視点が見出された。

参考文献

- 池田雄, 明石詢子, 町田裕貴, 鈴木準平, 藤田昌史. 2016. 汽水湖の環境要因に対するヤマトシジミの抗酸化応答. 土木工学論文集B2 (海岸工学), **72**(2), 1351-1356.
- 大阪武夫. 1999. 夢・科学21 活性酸素, 丸善株式会社, pp.3-31.
- 電気学会. 2002. 燃料電池の技術.
- 岡部聡, 内藤初夏, 渡辺義公. 1999. FISH 法を用いた都市下水生物膜内におけるアンモニア酸化細菌の空間分布の解析. 水環境学会誌, **22**(3), 191-198.
- 高妻篤史, 宮原盛夫, 渡邊一哉. 2012. 微生物燃料電池の可能性. 化学と生物, **50**(3), 150-152.
- 国土交通省. 2018. 日本の水資源の現況.
- 国土交通省. 2011. 下水道における化学物質排出量の把握と化学物質管理計画の策定等に関するガイドライン (案), <http://www.mlit.go.jp/crd/city/sewerage/info/prtr/guideline.html>, (入手 2019.4.30) .
- 国土交通省. 新下水道ビジョン. 2014. 第4章第2節「『循環のみち下水道』の進化」に向けた中期計画.
- 環境省. 2018 a. 平成 30 年版 環境 循環型社会 生物多様性白書. <http://www.env.go.jp/policy/hakusyo/h30/pdf.html>, (入手 2019.4.30) .
- 環境省. 2018 b. 持続可能な開発目標 (SDGs) 活用ガイド. 官公庁環境専門資料, **53**(4), 56-88.
- 環境省. 2017. 平成 29 年版 環境 循環型社会 生物多様性白書. <http://www.env.go.jp/policy/hakusyo/h29/pdf.html>, (入手 2019.4.30) .
- 吉川敏一. 2011. 最終講義フリーラジカルの医学. 京都府立医科大学雑誌, **120**(6), 381-391.
- 吉野彰. 2006. 電池革新が拓く次世代電源. p.232, pp.47-55.
- 菅原二三男. 2014. マクマリー生物有機化学 生化学編第4版. 丸善, pp.106-107.
- 経済産業省. 平成 28 年度 PRTR 届出外排出量の推計方法等の概要, http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/law/prtr/6.html, (入手 2019.4.30) .
- 鈴木穰, 宮原茂, 竹石和夫. 1991. 耐水性気体透過膜を用いた排水処理方法に関する研究. 衛生工学研究論文集, **27**(0), 65-74.
- 秋元圭吾, 佐野史典. 2017. パリ協定2°C目標から見た我が国の2050年排出削減目標に関する分析. エネルギー・資源学会論文誌, **38**(1), 1-9.
- 日本産業洗浄協議会. 2011. わかりやすい界面活性剤.
- 日立市企業局上下水部浄化センター, 2012. 維持管理年報告, p.1, p.11, p.24.
- 柿菌俊英. 2009. バイオ燃料電池-有機性廃棄物・廃水を電力資源化する. 高温学会誌, **35**(5), 263-268.
- 松本友矩. 2007. 水環境工学改定2版, オーム社, p.48, p.217
- 天野耕二, 福島武彦, 中杉修身. 1989. 湖沼河口域における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩

参考文献

- (LAS)の収支モデル, 水質汚濁研究, **13**(9), 577-585.
- 電池工業会. 電池の種類, <http://www.baj.or.jp/knowledge/type.html>, (入手 2019.5.6) .
- 趙 光耀. 2019. 微生物燃料電池のアノード生物膜モデルの開発. 茨城大学院修士論文.
- 住友恒, 村上仁士, 伊藤禎彦, 上月康則, 西村文武, 橋本温, ... & 山本裕史. 2007. 新版環境工学~持続可能な社会とその創造のために, pp.76-81.

参考文献

- APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edition. American Public Health Association, *Washington DC*.
- Adelaja O, Keshavarz T, Kyazze G. The effect of salinity, redox mediators and temperature on anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in microbial fuel cells. *Journal of hazardous materials*, 2015, **283**, 211–217.
- Adrian O., Aaron M. S., M. Teresa V., Zhiguo Y., and Jürg K. 2006. Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources, *Journal of Biotechnology*, **123**, 22–32.
- Ahn Y, Logan B E. Domestic wastewater treatment using multi-electrode continuous flow MFCs with a separator electrode assembly design. *Applied microbiology and biotechnology*, 2013, **97**(1), 409–416.
- Ahn, Y., Logan, B. E. 2012. A multi-electrode continuous flow microbial fuel cell with separator electrode assembly design. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **93**(5), 2241–2248.
- Ahn, Y., Hatzell, M. C., Zhang, F., Logan, B. E. 2014. Different electrode configurations to optimize performance of multi-electrode microbial fuel cells for generating power or treating domestic wastewater. *Journal of Power Sources*, **249**, 440–445.
- Asensio, Y., Fernandez-Marchante, C. M., Lobato, J., Cañizares, P., Rodrigo, M. A. 2018. Influence of the ion-exchange membrane on the performance of double-compartment microbial fuel cells, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **808**, 427–432.
- Basura, V. I., Beattie, P. D., Holdcroft, S. 1998. Solid-state electro-chemical oxygen reduction at Pt/Nafion 117 and Pt/BAM3G407 interfaces, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **458** 1–5.
- Bronzino, J.D. 1999. *Biomedical Engineering Handbook*. CRC press.
- Buitrón, G., Moreno-Andrade, I. 2014. Performance of a single-chamber microbial fuel cell degrading phenol: effect of phenol concentration and external resistance. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **174**(7), 2471–2481.
- Cabiscol Català, E., Tamarit Sumalla, J., Ros Salvador, J. 2000. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. *International Microbiology*, **3**(1), 3–8.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R. L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, **22**(5), 749–760.
- Catal, T., Li, K., Bermek, H., Liu, H. 2008. Electricity production from twelve monosaccharides using microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, **175**(1), 196–200.
- Centurion, V. B., Moura, A. G. L., Delforno, T. P., Okada, D. Y., Dos Santos, V. P., Varesche, M. B. A., Oliveira, V. M. 2018. Anaerobic co-digestion of commercial laundry wastewater and domestic sewage in a pilot-scale EGSB reactor: The influence of surfactant concentration on microbial diversity, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **127**, 77–86.

- Chae K J, Choi M J, Lee J W, *et al.* 2009. Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, **100**(14), 3518–3525.
- Chae, K. J., Choi, M. J., Lee, J. W., Kim, K. Y., Kim, I. S. 2009. Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells, *Bioresource Technology*, **100**(14), 3518–3525.
- Chang, E. E., Hsing, H. J., Chiang, P. C., Chen, M. Y., Shyng, J. Y. 2008. The chemical and biological characteristics of coke–oven wastewater by ozonation. *Journal of Hazardous Materials*, **156**(1–3), 560–567.
- Cheng S, Logan B E. 2011. Increasing power generation for scaling up single–chamber air cathode microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, **102**(6), 4468–4473.
- Cheng, S., Liu, H., Logan, B. E. 2006. Increased performance of single–chamber microbial fuel cells using an improved cathode structure. *Electrochemistry Communications*, **8**(3), 489–494.
- Comeau, Y., Hall, K. J., Hancock, R. E. W., Oldham, W. K. 1986. Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal, *Water Research*, **20**(12) 1511–1521.
- Delforno, T. P., Macedo, T. Z., Midoux, C., Lacerda Jr, G. V., Rué, O., Mariadassou, M., Loux, V., Varesche, M. B.A., Bouchez, T., Ariane Bize, Oliveira, V. M. 2019 Comparative metatranscriptomic analysis of anaerobic digesters treating anionic surfactant contaminated wastewater, *Science of The Total Environment*, **649** 482–494.
- Dereszewska, A., Cytawa, S., Tomczak–Wandzel, R., Medrzycka, K. 2015. The Effect of Anionic Surfactant Concentration on Activated Sludge Condition and Phosphate Release in Biological Treatment Plant, *Polish Journal of Environmental Studies*, **24**(1).
- Do, M. H., Ngo, H. H., Guo, W. S., Liu, Y., Chang, S. W., Nguyen, D. D., ... & Ni, B. J. 2018. Challenges in the application of microbial fuel cells to wastewater treatment and energy production: a mini review. *Science of The Total Environment*, **639**, 910–920.
- Donovan C, Dewan A, Peng H, *et al.* 2011. Power management system for a 2.5 W remote sensor powered by a sediment microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, **196**(3), 1171–1177.
- Du, Z., Li, H., Gu, T. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advances*, **25**(5), 464–482.
- Feng, C., Huang, L., Yu, H., Yi, X., Wei, C. 2015. Simultaneous phenol removal, nitrification and denitrification using microbial fuel cell technology. *Water Research*, **76**, 160–170.
- Friman, H., Schechter, A., Nitzan, Y., Cahan, R. 2013. Phenol degradation in bio–electrochemical cells. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **84**, 155–160.
- Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., Nielsen, P. H. 1996. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water research*, **30**(8), 1749–1758.
- Gong Y, Ebrahim A, Feist A M, *et al.* Sulfide–driven microbial electrosynthesis. *Environmental Science & Technology*, 2012, **47**(1), 568–573.

- Gong, Z., Yang, F., Liu, S., Bao, H., Hu, S., Furukawa, K. 2007. Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve single-stage autotrophic nitrogen removal based on Anammox. *Chemosphere*, **69**(5), 776–784.
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Van Loosdrecht, M. C. M. 2000. *Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3*. IWA publishing.
- Henze, M., van Loosdrecht, M.C., Ekama, G.A., Brdjanovic, D. 2008. *Biological Wastewater Treatment*. IWA publishing.
- Hirooka, K., Ichihashi, O. 2013. Phosphorus recovery from artificial wastewater by microbial fuel cell and its effect on power generation. *Bioresource Technology*, **137**, 368–375.
- Hu, S., Yang, F., Liu, S., Yu, L. 2009. The development of a novel hybrid aerating membrane-anaerobic baffled reactor for the simultaneous nitrogen and organic carbon removal from wastewater. *Water Research*, **43**(2), 381–388.
- Ieropoulos I, Greenman J, Melhuish C, *et al.* Energy accumulation and improved performance in microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 2005, **145**(2), 253–256.
- Kato Marcus, A., Torres, C. I., Rittmann, B. E. 2007. Conduction-based modeling of the biofilm anode of a microbial fuel cell. *Biotechnology and Bioengineering*, **98**(6), 1171–1182.
- Khan, M. D., Khan, N., Sultana, S., Joshi, R., Ahmed, S., Yu, E., Scott, K., Ahmad, A., Khan, M. Z. 2017. Bioelectrochemical conversion of waste to energy using microbial fuel cell technology, *Process Biochemistry*, **57**, 141–158.
- Kim B H, Kim H J, Hyun M S, *et al.* 1999. Direct electrode reaction of Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **9**(2), 127–131.
- Kim J R, Jung S H, Regan J M, *et al.* 2007. Electricity generation and microbial community analysis of alcohol powered microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, **98**(13), 2568–2577.
- Kim J R, Min B, Logan B E. 2005. Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **68**(1), 23–30.
- Kugelman, I.J., McCarty, P.L. 1965. Cation toxicity and stimulation in anaerobic waste treatment. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 97–116.
- Kun G., Alexander H. S., Sunil A. P., Antonin P., Stefano F., J. Justin G., and Korneel R. 2014. Surfactant treatment of carbon felt enhance anodic microbial electrocatalysis in bioelectrochemical systems, *Electrochemistry Communications*, **39**, 1–4.
- Kuntke, P., Śmiech, K., Bruning, H., Zeeman, G., Saakes, M., Sleutels, T., Hamelers, H., Buisman, C. 2012. Ammonium recovery and energy production from urine by a microbial fuel cell. *Water Research*, **46**(8), 2627–2636.
- Larsen, T.A., Gujer, W. 1997. The concept of sustainable urban water management. *Water Science and Technology*, **35**(9), 3–10.

- Larson, R. J., Rothgeb, T. M., Shimp, R. J., Ward, T. E., Ventullo, R. M. 1993. Kinetics and practical significance of biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in the environment, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **70**(7), 645–657.
- Lee D J, Lee C Y, Chang J S. 2012. Treatment and electricity harvesting from sulfate/sulfide-containing wastewaters using microbial fuel cell with enriched sulfate-reducing mixed culture. *Journal of Hazardous Materials*, **243**, 67–72.
- Lefebvre, O., Moletta, R. 2006. Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: a literature review. *Water Research*, **40**(20), 3671–3682.
- Lefebvre, O., Tan, Z., Kharkwal, S., Ng, H.Y. 2012. Effect of increasing anodic NaCl concentration on microbial fuel cell performance. *Bioresource Technology*, **112**, 336–340.
- Li Z, Yao L, Kong L, *et al.* 2008. Electricity generation using a baffled microbial fuel cell convenient for stacking. *Bioresource Technology*, **99**(6), 1650–1655.
- Li, X.M., Cheng, K.Y., Wong, J.W. 2013. Bioelectricity production from food waste leachate using microbial fuel cells: Effect of NaCl and pH. *Bioresource Technology*, **149**, 452–458.
- Li, Y., Gu, G., Zhao, J., Yu, H., Qiu, Y., Peng, Y. 2003. Treatment of coke-plant wastewater by biofilm systems for removal of organic compounds and nitrogen. *Chemosphere*, **52**(6), 997–1005.
- Liang, Z., Li, W., Yang, S., Du, P. 2010. Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge. *Chemosphere*, **81**(5), 626–632.
- Lim, B. R., Hu, H. Y., Fujie, K. 2003. Biological degradation and chemical oxidation characteristics of coke-oven wastewater. *Water, Air, and Soil pollution*, **146**(1–4), 23–33.
- Lim, B. R., Hu, H. Y., Huang, X., Fujie, K. 2002. Effect of seawater on treatment performance and microbial population in a biofilter treating coke-oven wastewater. *Process Biochemistry*, **37**(9), 943–948.
- Lin C W, Wu C H, Chiu Y H, *et al.* 2014. Effects of different mediators on electricity generation and microbial structure of a toluene powered microbial fuel cell. *Fuel*, **125**, 30–35.
- Liu H, Cheng S, Logan B E. 2005. Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, **39**(2), 658–662.
- Liu H, Logan B E. 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental Science & Technology*, **38**(14), 4040–4046.
- Liu, D., Wang, R., Chang, W., Zhang, L., Peng, B., Li, H., ... & Guo, C. 2018. Ti₃C₂ MXene as an excellent anode material for high-performance microbial fuel cells. *Journal of Materials Chemistry A*, **6**(42), 20887–20895.
- Liu, H., Logan, B. E. 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental Science & Technology*, **38**(14), 4040–4046.

- Liu, H., Logan, B. E. 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane, *Environmental Science & Technology*, **38**(14), 4040–4046.
- Liu, H., Cheng, S., Logan, B. E. 2005. Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, **39**(2), 658–662.
- Liu, H., Cheng, S., Logan, B.E. 2005. Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. *Environmental Science & Technology*, **39**(14), 5488–5493.
- Liu, R., Tursun, H., Hou, X., Odey, F., Li, Y., Wang, X., Xie, T. 2017. Microbial community dynamics in a pilot-scale MFC-AA/O system treating domestic sewage. *Bioresource Technology*, **241**, 439–447.
- Logan B E. Microbial fuel cells. *John Wiley & Sons*, 2008.
- Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W., Rabaey, K. 2006. Microbial fuel cells: methodology and technology, *Environmental Science & Technology*, **40**(17), 5181–5192.
- Lu N, Zhou S, Zhuang L, *et al.* 2009. Electricity generation from starch processing wastewater using microbial fuel cell technology. *Biochemical Engineering Journal*, **43**(3), 246–251.
- Luo H, Xu P, Roane T M, *et al.* 2012. Microbial desalination cells for improved performance in wastewater treatment, electricity production, and desalination. *Bioresource Technology*, **105**, 60–66.
- Luo, H., Liu, G., Zhang, R., Jin, S. 2009. Phenol degradation in microbial fuel cells. *Chemical Engineering Journal*, **147**(2–3), 259–264.
- Mallick, N., Mohn, F. H. 2000. Reactive oxygen species: response of algal cells. *Journal of Plant Physiology*, **157**(2), 183–193.
- Mansoorian, H. J., Mahvi, A. H., Jafari, A. J., Khanjani, N. 2016. Evaluation of dairy industry wastewater treatment and simultaneous bioelectricity generation in a catalyst-less and mediator-less membrane microbial fuel cell. *Journal of Saudi Chemical Society*, **20**(1), 88–100.
- Mansoorian, H. J., Mahvi, A. H., Jafari, A. J., Amin, M. M., Rajabizadeh, A., Khanjani, N. 2013. Bioelectricity generation using two chamber microbial fuel cell treating wastewater from food processing. *Enzyme and Microbial Technology*, **52**(6–7), 352–357.
- Min B, Kim J R, Oh S E, *et al.* 2005. Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Water Research*, **39**(20), 4961–4968.
- Miyahara, M., Hashimoto, K., Watanabe, K. 2013. Use of cassette-electrode microbial fuel cell for wastewater treatment. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **115**(2), 176–181.
- Muyzer G, Stams A J M. 2008. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, **6**(6), 441–454.

- Nahrgang, J., Brooks, S. J., Evenset, A., Camus, L., Jonsson, M., Smith, T. J., ... & Renaud, P. E. 2013. Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*)—Implications for environmental monitoring in the Barents Sea. *Aquatic Toxicology*, **127**, 21–35.
- Okada, D. Y., Delforno, T. P., Etchebehere, C., Varesche, M. B. 2014. Evaluation of the microbial community of upflow anaerobic sludge blanket reactors used for the removal and degradation of linear alkylbenzene sulfonate by pyrosequencing, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **96**, 63–70.
- Ou, S., Kashima, H., Aaron, D. S., Regan, J. M., Mench, M. M. 2016. Multi-variable mathematical models for the air-cathode microbial fuel cell system. *Journal of Power Sources*, **314**, 49–57.
- Pachauri, R. K., Allen, M. R., Barros, V. R., Broome, J., Cramer, W., Christ, R., ... & Dubash, N. K. 2014. Climate change 2014: synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (p. 151). *IPCC*.
- Palanisamy, G., Jung, H. Y., Sadhasivam, T., Kurkuri, M. D., Kim, S. C., Roh, S. H. 2019. A comprehensive review on microbial fuel cell technologies: Processes, utilization, and advanced developments in electrodes and membranes. *Journal of Cleaner Production*.
- Pandey, P., Shinde, V.N., Deopurkar, R.L., Kale, S.P., Patil, S.A., Pant, D. 2016. Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. *Applied Energy*, **168**, 706–723.
- Pant, D., Van Bogaert, G., Diels, L., *et al.* 2010. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource Technology*, **101**(6), 1533–1543.
- Park, H. J., Kim, J. Y., Kim, J., Lee, J. H., Hahn, J. S., Gu, M. B., Yoon, J. 2009. Silver-ion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. *Water Research*, **43**(4), 1027–1032.
- Pinto, R.P., Srinivasan, B., Manuel, M.F., Tartakovsky, B. 2010. A two-population bioelectrochemical model of a microbial fuel cell, *Bioresource Technology*, **101**, 5256–5265.
- Pokhrel, P., Akashi, J., Suzuki, J., Fujita, M. 2019. Oxidative stress responses to feeding activity and salinity level in brackish water clam *Corbicula japonica*. *Science of The Total Environment*, **665**, 191–195.
- Potter M C. Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. 1911. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, *Containing Papers of a Biological Character*, 260–276.
- Puig, S., Coma, M., Desloover, J., Boon, N., Colprim, J.s., Balaguer, M.D. 2012. Autotrophic denitrification in microbial fuel cells treating low ionic strength waters. *Environmental Science & Technology*, **46**(4), 2309–2315.
- Quan, X., Wang, F., Zhao, Q., Zhao, T., Xiang, J. 2009. Air stripping of ammonia in a water-sparged aerocyclone reactor. *Journal of Hazardous Materials*, **170**(2–3), 983–988.

参考文献

- Rabaey K, Van de Sompel K, Maignien L, *et al.* 2006. Microbial fuel cells for sulfide removal. *Environmental Science & Technology*, **40**(17), 5218–5224.
- Read, S. T., Dutta, P., Bond, P. L., Keller, J., Rabaey, K. 2010. Initial development and structure of biofilms on microbial fuel cell anodes. *BMC microbiology*, **10**(1), 98.
- Regoli, F. 2000. Total oxyradical scavenging capacity (TOSC) in polluted and translocated mussels: a predictive biomarker of oxidative stress. *Aquatic Toxicology*, **50**(4), 351–361.
- Ren L, Ahn Y, Logan B E. 2014. A two-stage microbial fuel cell and anaerobic fluidized bed membrane bioreactor (MFC–AFMBR) system for effective domestic wastewater treatment. *Environmental Science & Technology*, **48**(7), 4199–4206.
- Rozendal R A, Hamelers H V M, Rabaey K, *et al.* 2008. Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. *Trends in Biotechnology*, **26**(8), 450–459.
- Saeed H M, Hussein G A, Yousef S, *et al.* 2015. Microbial desalination cell technology: a review and a case study. *Desalination*, **359**, 1–13.
- Sangcharoen A, Niyom W, Suwannasilp B. B. 2015. A microbial fuel cell treating organic wastewater containing high sulfate under continuous operation: Performance and microbial community. *Process Biochemistry*, **50**(10), 1648–1655.
- Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B., Ieropoulos, I. 2017. Microbial fuel cells: from fundamentals to applications. A review. *Journal of Power Sources*, **356**, 225–244.
- Semmens, M.J., Dahm, K., Shanahan, J., Christianson, A. 2003. COD and nitrogen removal by biofilms growing on gas permeable membranes. *Water Research*, **37**(18), 4343–4350.
- Shaw, K. 1993. Biological treatment of full-strength coke plant wastewater at Geneva Steel. *Iron and Steel Engineer; (United States)*, **70**(8).
- Shi, Y., Huang, J., Zeng, G., Gu, Y., Chen, Y., Hu, Y., ... & Shi, L. 2017. Exploiting extracellular polymeric substances (EPS) controlling strategies for performance enhancement of biological wastewater treatments: an overview. *Chemosphere*, **180**, 396–411.
- Smolders, G., Van der Meij, J., Van Loosdrecht, M., Heijnen, J. 1994. Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: stoichiometry and pH influence. *Biotechnology and Bioengineering*, **43**(6), 461–470.
- Song, T. S., Wu, X. Y., Zhou, C.C. 2014. Effect of different acclimation methods on the performance of microbial fuel cells using phenol as substrate. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **37**(2), 133–138.
- Sotres, A., Cerrillo, M., Viñas, M., Bonmatí, A. 2016. Nitrogen removal in a two-chambered microbial fuel cell: establishment of a nitrifying–denitrifying microbial community on an intermittent aerated cathode. *Chemical Engineering Journal*, **284**, 905–916.
- Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S. E., Fetzer, I., Bennett, E. M., ... & Folke, C. 2015. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science*, **347**(6223), 1259855.

- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G. K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., ... & Midgley, P. M. 2013. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. *Climate change*.
- Sueoka, K., Satoh, H., Onuki, M., Mino, T. 2009. Microorganisms involved in anaerobic phenol degradation in the treatment of synthetic coke-oven wastewater detected by RNA stable-isotope probing. *FEMS Microbiology Letters*, **291**(2), 169–174.
- Tandukar, M, Huber, S. J., Onodera, T. *et al.* 2009. Biological chromium (VI) reduction in the cathode of a microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, **43**(21), 8159–8165.
- Ter Heijne, A., Hamelers, H.V., De Wilde, V., Rozendal, R. A., Buisman, C. J. 2006. A bipolar membrane combined with ferric iron reduction as an efficient cathode system in microbial fuel cells. *Environmental Science & Technology*, **40**(17), 5200–5205.
- Terada, A., Yamamoto, T., Igarashi, R., Tsuneda, S., Hirata, A. 2006. Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve controllable nitrification. *Biochemical Engineering Journal*, **28**(2), 123–130.
- Toczyłowska-Mamińska, R., Szymona, K., Kloch, M. 2018. Bioelectricity production from wood hydrothermal-treatment wastewater: Enhanced power generation in MFC-fed mixed wastewaters. *Science of The Total Environment*, **634**, 586–594.
- Tsuji, K., Fujita, M., Furumai, H. 2009. Acetate uptake efficiency of polyphosphate-accumulating organisms under exposure to surfactants, *Water Science and Technology*, **60**(11) 2775–2780.
- Velasquez-Orta S. B., Yu E, Katuri K P, *et al.* 2011. Evaluation of hydrolysis and fermentation rates in microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **90**(2), 789–798.
- Virdis, B., Rabaey, K., Rozendal, R.A., Yuan, Z., Keller, J. 2010. Simultaneous nitrification, denitrification and carbon removal in microbial fuel cells. *Water Research*, **44**(9), 2970–2980.
- Virdis, B., Rabaey, K., Yuan, Z., Keller, J. 2008. Microbial fuel cells for simultaneous carbon and nitrogen removal. *Water Research*, **42**(12), 3013–3024.
- Watanabe, K. 2008. Recent developments in microbial fuel cell technologies for sustainable bioenergy. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **106**(6), 528–536.
- Wen, Q., Kong, F., Ma, F., Ren, Y., Pan, Z. 2011. Improved performance of air-cathode microbial fuel cell through additional Tween 80, *Journal of Power Sources*, **196**(3) 899–904.
- Wen, Q., Kong, F., Ren, Y., Cao, D., Wang, G., Zheng, H. 2010. Improved performance of microbial fuel cell through addition of rhamnolipid, *Electrochemistry Communications*, **12**(12), 1710–1713.
- World Health Organization. 2015. Health in 2015: from MDGs, millennium development goals to SDGs, sustainable development goals.
- Wu S, Liang P, Zhang C, *et al.* 2015. Enhanced performance of microbial fuel cell at low substrate concentrations by adsorptive anode. *Electrochimica Acta*, **161**, 245–251.
- Yan, H., Saito, T., Regan, J.M. 2012. Nitrogen removal in a single-chamber microbial fuel cell with nitrifying biofilm enriched at the air cathode. *Water Research*, **46**(7), 2215–2224.

- Yang, Y., Li, X., Yang, X., He, Z. 2017. Enhanced nitrogen removal by membrane-aerated nitrification-anammox in a bioelectrochemical system. *Bioresource Technology*, **238**, 22–29.
- Yazdi, H., Alzate-Gaviria, L., Ren, Z. J. 2015. Pluggable microbial fuel cell stacks for septic wastewater treatment and electricity production. *Bioresource Technology*, **180**, 258–263.
- Yoshida, N., Miyata, Y., Mugita, A., Iida, K. 2016. Electricity recovery from municipal sewage wastewater using a hydrogel complex composed of microbially reduced graphene oxide and sludge. *Materials*, **9**(9), 742.
- Yoshizawa T, Miyahara M, Kouzuma A, *et al.* 2014. Conversion of activated-sludge reactors to microbial fuel cells for wastewater treatment coupled to electricity generation. *Journal of bioscience and bioengineering*, **118**(5), 533–539.
- Yu, C. P., Liang, Z., Das, A., Hu, Z. 2011. Nitrogen removal from wastewater using membrane aerated microbial fuel cell techniques. *Water Research*, **45**(3), 1157–1164.
- Zhang F, Ge Z, Grimaud J. *et al.* 2013. Long-term performance of liter-scale microbial fuel cells treating primary effluent installed in a municipal wastewater treatment facility. *Environmental Science & Technology*, **47**(9), 4941–4948.
- Zhang, G., Zhang, H., Ma, Y., Yuan, G., Yang, F., Zhang, R. 2014. Membrane filtration biocathode microbial fuel cell for nitrogen removal and electricity generation. *Enzyme and Microbial Technology*, **60**, 56–63.
- Zhang, X., Zhu, F., Chen, L., Zhao, Q., Tao, G. 2013. Removal of ammonia nitrogen from wastewater using an aerobic cathode microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, **146**, 161–168.
- Zhao F, Rahunen N, Varcoe J R, *et al.* 2008. Activated carbon cloth as anode for sulfate removal in a microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, **42**(13), 4971–4976.
- Zhao, N., Ma, Z., Song, H., Xie, Y., Zhang, M. 2019. Enhancement of bioelectricity generation by synergistic modification of vertical carbon nanotubes/polypyrrole for the carbon fibers anode in microbial fuel cell. *Electrochimica Acta*, **296**, 69–74.
- Zhuang, L., Zheng, Y., Zhou, S., Yuan, Y., Yuan, H., Chen, Y. 2012. Scalable microbial fuel cell (MFC) stack for continuous real wastewater treatment. *Bioresource Technology*, **106**, 82–88.

令和 1 年 9 月 10 日

研究業績リスト

審査付論文

1. Wang, Fengyu, Matsubara Hirokazu, Nittami, Tadashi, Fujita, Masafumi
Utilization of a Silicone Rubber Membrane for Passive Oxygen Supply in a Microbial Fuel Cell Treating Carbon and Nitrogen from Synthetic Coke-Oven Wastewater
Applied biochemistry and biotechnology, **189**(1), 217–232, 2019.
2. 王峰宇, 藤田昌史
微生物燃料電池の酢酸除去と発電への陰イオン界面活性剤の影響
用水と廃水, **61**(3), 189–196, 2019.
3. 松原弘和, 王峰宇, 藤田昌史.
気体透過膜による受動的な酸素供給に基づく硝化手法: コークス炉排水を処理する二槽式微生物燃料電池での検討
用水と廃水, **59**(6), 453–459, 2017.
4. 王峰宇, 石渡恭之, 藤田昌史
ツバル国海岸の重金属汚染の評価と既設の Septic Tank の活用を想定した除去手法の検討
土木学会論文集 G (環境) , **70**(7), 509–515, 2014.

学会発表

(国際会議)

1. Wang Fengyu, Fujita Masafumi

Total antioxidant capacity of conventional activated sludge in municipal wastewater treatment plant

8th IWA-ASPIRE Conference and Exhibition, Honkon, 2019. (accepted)

2. Wang Fengyu, Fujita Masafumi

Phosphorus removal method using wasted clam shell: Optimization of Ca^{2+} Dissociation and PO_4^{3-} Deposition

Water and Environment Technology Conference, Tokyo, 2016.

(国内会議)

1. 王峰宇, 藤田昌史

都市下水処理場における標準活性汚泥の総抗酸化力の動態

第46回土木学会関東支部技術研究発表会, 群馬県前橋市, 2019年3月.

2. 鈴木駿也, 王峰宇, 藤田昌史

流入下水の生物分解性有機物濃度の迅速推定に向けた ORP・pH 電極データの評価

第56回下水道研究発表会, 神奈川県横浜市, 2019年8月.

3. 趙光耀, 王峰宇, 藤田昌史

微生物燃料電池のアノードにおける一次元生物膜モデルの構築

第53回日本水環境学会年会, 山梨県甲府市, 2019年3月.

4. 王峰宇, 藤田昌史

都市下水を処理する標準活性汚泥の抗酸化力の評価

第52回日本水環境学会年会, 北海道札幌市, 2018年3月.

5. Bui Thanh Hai, 王峰宇, 藤田昌史

塩酸投入型カソード槽と陰イオン交換膜を導入した下水管型微生物燃料電池の構築

第52回日本水環境学会年会, 北海道札幌市, 2018年3月.

6. 藤田昌史, 仙波正樹, 王峰宇

生物膜内の有機物競合を考慮した一次元微生物燃料電池モデルの開発

第54回下水道研究発表会, 東京, 2017年8月.

7. 松原弘和, 王峰宇, 藤田昌史

気体透過膜を導入した二槽式微生物燃料電池による有機物・窒素の同時除去手法の検討

第51回日本水環境学会年会, 熊本県熊本市, 2017年3月.

8. 王峰宇, 藤田昌史

研究業績リスト

海水を投入した都市下水処理型微生物燃料電池による発電

第 50 回日本水環境学会年会，徳島県徳島市，2016 年 3 月．

9. 王峰宇，藤田昌史．海水を利用した生物学的排水処理法における発電能力の検討，
第 49 回日本水環境学会年会，石川県金沢市，2015 年 3 月．
10. 王峰宇，石渡恭之，藤田昌史
ツバル国海岸の重金属汚染の評価と既設の Septic Tank の活用を想定した除去手法
の検討
第 51 回環境工学研究フォーラム，山梨県甲府市，2014 年 12 月．
11. 王峰宇，井上龍太郎，石渡恭之，藤田昌史
海水を利用した生物学的排水処理法における重金属の挙動
第 48 回日本水環境学会年会，宮城県仙台市，2014 年 3 月．

解説

藤田昌史, 王峰宇

太平洋環礁国におけるエネルギー自立的な生活排水処理手法の開発 (特集 生物学的水処理における微生物燃料電池の活用)

用水と廃水, 58(10), 753－758, 2016.

賞罰

土木学会関東支部優秀発表賞, 2019 年 3 月